

**PENGARUH PEMBERIAN AIR TAPE KETAN PUTIH YANG MENGANDUNG  
ALKOHOL TERHADAP BERAT DAN HISTOPATOLOGI ZONA LABIRIN  
PLASENTA TIKUS (*Rattus Norvegicus strain Wistar*)**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



**Oleh:  
Aisyah Nurul Ayni  
NIM 145070601111040**

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| Halaman Judul.....   | i       |
| Halaman Pengesahan .....                                   | ii      |
| Halaman Pernyataan Keaslian Tulisan .....                  | iii     |
| Kata Pengantar.....  | iv      |
| Abstrak .....  | vi      |
| Abstract .....   | vii     |
| Daftar Isi .....   | viii    |
| Daftar Tabel.....  | x       |
| Daftar Gambar .....  | xi      |
| Daftar Singkatan.....                                      | xii     |
| <br><b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>                              |         |
| 1.1 Latar Belakang.....                                    | 1       |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                  | 4       |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                | 4       |
| 1.3.1 Tujuan Umum .....                                    | 4       |
| 1.3.2 Tujuan Khusus .....                                  | 4       |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                               | 5       |
| 1.4.1 Manfaat Akademik .....                               | 5       |
| 1.4.2 Manfaat Praktis .....                                | 5       |
| <br><b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>                        |         |
| 2.1 Tape Ketan Putih.....                                  | 6       |
| 2.1.1 Cara Pembuatan Tape Ketan .....                      | 7       |
| 2.1.2 Kandungan Dalam Tape Ketan .....                     | 8       |
| 2.1.3 Kandungan alkohol pada tape ketan putih.....         | 9       |
| 2.2 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....         | 10      |
| 2.2.1 Siklus Estrus pada Tikus .....                       | 12      |
| 2.2.2 Plasenta Tikus Normal .....                          | 16      |
| 2.2.3 Zona Labirin Plasenta Tikus .....                    | 18      |
| 2.3 Plasenta .....   | 21      |
| 2.3.1 Fisiologi dan Anatomi Plasenta .....                 | 21      |
| 2.3.2 Fungsi Plasenta.....                                 | 22      |
| 2.4 Alkohol .....  | 23      |
| 2.4.1 Definisi .....                                       | 23      |
| 2.4.2 Metabolisme Alkohol pada Kehamilan .....             | 25      |
| 2.4.3 Efek Alkohol pada Kehamilan.....                     | 27      |
| 2.4.4 Efek Alkohol Pada Plasenta .....                     | 29      |
| 2.4.5 Efek Alkohol pada Plasenta Tikus .....               | 30      |
| 2.5 Etika Penelitian Ilmiah .....                          | 31      |
| <br><b>BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> |         |
| 3.1 Kerangka Konsep .....                                  | 34      |
| 3.2 Hipotesis Penelitian .....                             | 35      |

## **BAB 4. METODE PENELITIAN**

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Rancangan Penelitian .....   | 37 |
| 4.2 Populasi dan Sampel.....   | 37 |
| 4.3 Variabel Penelitian.....   | 38 |
| 4.3.1 Variabel bebas .....   | 38 |
| 4.3.2 Variabel terikat .....   | 38 |
| 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....                                    | 38 |
| 4.5 Bahan dan Alat Penelitian .....                                      | 39 |
| 4.5.1 Bahan Penelitian .....   | 39 |
| 4.5.2 Alat Penelitian .....  | 39 |
| 4.6 Definisi Operasional .....   | 40 |
| 4.7 Prosedur Penelitian .....  | 41 |
| 4.7.1 Adaptasi Hewan Coba.....   | 41 |
| 4.7.2 Pengawinan Hewan Coba .....  | 41 |
| 4.7.3 Pembagian kelompok hewan coba .....                                | 42 |
| 4.7.4 Prosedur Pembuatan Tape Ketan .....                                | 42 |
| 4.7.5 Prosedur Pengukuran Kadar Alkohol Pada Tape Ketan Putih .....      | 43 |
| 4.7.6 Penentuan Dosis Tape Ketan Putih .....                             | 44 |
| 4.7.7 Prosedur Pemberian Tape Ketan Putih pada Hewan coba .....          | 44 |
| 4.7.8 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba .....                             | 44 |
| 4.7.9 Prosedur Pembedahan Dan Pengukuran Berat Plasenta Hewan Coba ..... | 45 |
| 4.7.10 Pengamatan Histopatologi Plasenta Tikus .....                     | 45 |
| 4.7.11 Alur Penelitian .....   | 46 |
| 4.8 Analisa Data .....   | 47 |

## **BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA**

|   |    |
|---|----|
| 5.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data..... | 49 |
|---|----|

## **BAB 6. PEMBAHASAN .....**

## **BAB 7. PENUTUP**

|                     |    |
|---------------------|----|
| 7.1 Kesimpulan..... | 62 |
| 7.2 Saran.....      | 62 |

## **DAFTAR PUSTAKA.....**

## **LAMPIRAN**

|  |    |
|--|----|
| Lampiran 1 Hasil Analisis Data .....   | 69 |
| Lampiran 2 Form kelayakan etik .....   | 70 |
| Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian..... | 71 |

## DAFTAR TABEL

Halaman

|   |    |
|---|----|
| Tabel 2.1 Kandungan Beras Ketan Putih .....                                   | 7  |
| Tabel 2.2 Konversi Dosis Hewan Percobaan Dengan Manusia .....                 | 10 |
| Tabel 2.3 Rata Rata Berat Plasenta Tikus.....                                 | 16 |
| Tabel 2.4 Janis Minuman Beralkohol Dan Kadar Alkohol Yang Diperbolehkan ..... | 24 |
| Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Rata Rata Berat Plasenta Tikus.....                | 49 |



## DAFTAR GAMBAR

Halaman

|   |    |
|---|----|
| Gambar 2.1 Tape Ketan Putih .....   | 5  |
| Gambar 2.2 Cara Membuat Tape Ketan Putih .....                                      | 6  |
| Gambar 2.3 Rattus norvegicus strain wistar.....                                     | 9  |
| Gambar 2.4 Gambaran visual pada masing –masing siklus pada vulva.....               | 13 |
| Gambar 2.5 Vaginal plug .....   | 14 |
| Gambar 2.6 Pewarnaan H&E pada penampang plasenta tikus.....                         | 17 |
| Gambar 4.1 Alat GC-FID ( <i>Gas Chromatography Flame Ionizatin Detector</i> ) ..... | 37 |
| Gambar 5.1 Grafik Rata Rata Berat Plasenta.....                                     | 46 |
| Gambar 5.2 Histologi Zona Labirin Plasenta Tikus Pada Kelompok Kontrol.....         | 48 |
| Gambar 5.3 Histopatologi Zona Labirin Plasenta Tikus Pada Kelompok Perlakuan .53    |    |
| Gambar 5.4 Zona Labirin Pada Kelompok Kontrol .....                                 | 54 |



**DAFTAR SINGKATAN**

|                  |   |
|------------------|---|
| GC-FID           | : <i>Gas Chromatography Flame Ionization Detector</i> |
| P-TGC            | : <i>Parietal Trophoblast Gigant Cell</i>             |
| ADH              | : <i>Alkohol Dehidrogenase</i>                        |
| ALDH             | : <i>Aldehyd Dehidrogenase</i>                        |
| FASD             | : <i>Fetal Alcohol Spectrum Disorde</i>               |
| FAS              | : <i>Fetal Alcohol Syndrome</i>                       |
| IUGR             | : <i>Intrauterine Growth Restriction</i>              |
| BBLR             | : <i>Berat Badan Lahir Rendah</i>                     |
| SGA              | : <i>Small Size For Gestational Age</i>               |
| Dec              | : <i>Desidua</i>                                      |
| Jc               | : <i>Zona junctional</i>                              |
| Lab              | : <i>Labirin</i>                                      |
| Cp               | : <i>Chorionic Plat</i>                               |
| H&E              | : <i>hematoksin &amp; eosin</i>                       |
| NO               | : <i>Nitrogen Oksida</i>                              |
| TXA <sub>2</sub> | : <i>Tromboksan A<sub>2</sub></i>                     |

## ABSTRAK

Ayni, Aisyah Nurul. 2018. ***Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih Yang Mengandung Alkohol Terhadap Berat Dan Histopatologi Zona Labirin Plasenta Tikus (Rattus norvegicus Strain Wistar)***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, SpOG.

Tape ketan putih adalah makanan yang dianggap tabu untuk di konsumsi oleh ibu hamil karena memiliki kandungan alkohol paling tinggi diantara tape jenis lainnya. Alkohol dapat memberikan dampak negatif terhadap plasenta, namun belum terdapat penelitian lebih lanjut mengenai efek alkohol yang terkandung dalam tape ketan terhadap plasenta. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap berat dan histologi plasenta tikus. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Sampel pada penelitian diambil secara *random sampling* sebanyak 20 ekor tikus bunting yang selanjutnya dibagi kedalam 4 kelompok; satu kelompok kontrol (K), dan tiga kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 3 kelompok dosis air tape ketan putih (P1=20 mL/KgBB; P2=30 mL/KgBB; P3=40 mL/KgBB). Paparan yang diberikan yaitu air tape ketan putih dengan kandungan alkohol sebesar 2.79% yang diberikan pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-19 kebuntingan. Pada hari ke-20 tikus dikorbankan lalu dilakukan pengambilan sampel plasenta dan penimbangan berat plasenta. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata berat plasenta pada tikus mengalami penurunan namun tidak signifikan ( $p= 0,178$ ) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemberian air tape ketan putih dengan kadar alkohol 2,79% dapat mengakibatkan penipisan zona labirin dan atrofi sel trofoblas pada zona tersebut terutama pada kelompok P3. Kesimpulan: kandungan alkohol air tape ketan putih tidak berpengaruh terhadap penurunan berat plasenta tikus namun dapat memicu kerusakan sel trofoblas pada zona labirin plasenta tikus.

Kata kunci: hamil, tape ketan putih, berat plasenta, zona labirin.



## ABSTRACT

Ayni, Aisyah Nurul. 2018. ***The Effect of White Glutinous Rice Water Containing Alcohol To Placental Weight and Histopathology Of Labirynth Zone in Rat (Rattus Norvegicus Strain Wistar)***. Final Project, S1 Midwifery Program, Medical Faculty Brawijaya University. Counselor: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, SpOG.

White glutinous rice is a food that is considered taboo to be consumed by pregnant women because it has the highest alcohol content among other types of glutinous rice. Alcohol can have a negative impact on the placenta, but there is no further research into the effects of alcohol contained in white glutinous rice to the placenta. Therefore, this study was conducted to determine the effect of white glutinous rice water on the weight and histology of rat placenta. This research uses true experimental design with Post Control Only Control Group Design. Samples in the study were taken by random sampling of 20 bunting rats which were then divided into 4 groups; one control group (K), and three treatment groups divided into 3 groups of white glutinous rice (P1 = 20 mL / KgBB; P2 = 30 mL / KgBB; P3 = 40 mL / KgBB). Exposure given is white glutinous tape water given on the day-1 until the 19th day of pregnancy. On the 20th day the mice were sacrificed and placental sampling and weighing the placenta were taken. The results showed that average placental weight in mice decreased but not significant ( $p = 0.178$ ) when compared with control group. The provision of water of white glutinous rice with alcohol content of 2.79% can lead to depletion of labyrinth zone and trophoblast cell atrophy in the zone especially in P3 group. Conclusion: the content of tarted white glutinous rice water alcohol has no effect on the decrease of rat placenta weight but can trigger trophoblastic cell damage in labyrinth zone of mouse placenta.

Keywords: pregnancy, white glutinous tape, placental weight, labyrinth zone.



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tape beras ketan atau tape ketan adalah makanan fermentasi tradisional Indonesia (Nuraida, 2015). Tape ketan mengandung alkohol akibat dari proses fermentasi. Proses tersebut terbentuk dari jamur amilolitik berjenis *A.rouxii* dan setidaknya satu lagi jenis *E. Burtonii* yang menghidrolisis nasi (pati) kedalam maltosa dan glukosa serta memfermentasi gula menjadi alkohol dan asam organik, sehingga memberikan rasa dan aroma yang khas (Steinkraus, 1996). Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa tape ketan putih memiliki kemampuan menghasilkan alkohol yang paling banyak, yaitu mencapai kadar 11% dibanding tape ketan hitam (8,94%) dan tape singkong (6,92%) (Yulianti, 2014). Karbohidrat (glukosa) merupakan zat esensial yang diperlukan oleh tubuh, namun dalam jumlah berlebih tidak baik bagi kesehatan. Hal yang sama juga terjadi bila gula difermentasi menjadi alkohol, yang dapat melarutkan lemak tubuh tetapi jika berlebihan sangat tidak baik bagi tubuh sehingga alkohol dianggap toksik atau racun (Suaniti, 2015). Kandungan alkohol yang tinggi pada tape ketan dapat mempengaruhi kesehatan manusia, apalagi bila dikonsumsi oleh ibu hamil.

Alkohol akan dimetabolisme oleh tubuh menjadi Asetaldehida, yang terbukti memiliki efek buruk pada manusia dan pada model hewan coba. Alkohol dan Asetaldehida secara bebas melewati plasenta, dan menumpuk dalam darah janin pada konsentrasi sama dengan yang ditemukan dalam darah ibu (Heller, 2014).

Paparan alkohol saat kehamilan dapat mengganggu proses plasentasi yang sangat penting untuk membangun interaksi fetomaternal yang dibutuhkan untuk pengiriman nutrisi dan pembuangan limbah janin. Pertumbuhan janin tergantung pada pasokan nutrisi plasenta tersebut. Ukuran plasenta, morfologi dan aliran darah merupakan penentu penting transfer nutrisi plasenta. Langkah penting dalam membangun interaksi fetomaternal adalah sel trofoblastik invasif harus menginvasi arteri spiral ibu. Proses ini memungkinkan pasokan nutrisi terus menerus melalui plasenta ke janin (Gundongan, 2015). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa Asetaldehida memiliki efek buruk pada dua aspek utama fungsi trofoblas, yaitu proliferasi dan transportasi nutrient. Pada tikus, paparan alkohol mengurangi jumlah *invasive trophoblast giant cells* dan menginduksi kematian sel pada lapisan spongiotrofoblast. Efek pada plasenta tersebut menunjukkan mekanisme potensial dimana konsumsi alkohol ibu dapat berdampak pada perkembangan janin (Lui, 2014).

Pada dasarnya terdapat tiga kategori paparan pranatal terhadap alkohol yang terkait dengan jumlah alkohol yang dicerna, yaitu *heavy drinking* (lebih dari 48-60 gram alkohol /hari) yang dapat menyebabkan sindrom alkohol janin, *moderately high drinking* (antara 24-48 gram alkohol/hari), dan *binge drinking* dengan asupan 4-5 minuman alkohol (lebih dari 90 gram alkohol/minuman). Mengonsumsi alkohol, bahkan dalam jumlah sedang, juga dikaitkan dengan peningkatan risiko aborsi spontan, terutama pada trimester pertama kehamilan dan infertilitas pada pria dan wanita (Ornoy, 2010). Hal tersebut didukung dengan sebuah penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian alkohol pada trimester pertama dapat mengurangi perfusi plasenta dan merusak pertumbuhan dan perkembangan janin yang nampak di

pertengahan kehamilan (Jamie, 2016). Penelitian lainnya mengungkapkan bahwa konsumsi alkohol selama kehamilan berdampak pada penurunan usia kehamilan dan berat lahir bayi, peningkatan skor malperfusi uteroplasental, peningkatan kepadatan sel *cytotrophoblastic villous*, dan *chorangiosis* yang lebih luas pada plasenta (Tai, 2016).

Secara tradisional, tape ketan disiapkan oleh rumah tangga untuk acara-acara tertentu seperti saat festival Ramadhan, namun saat ini tape ketan diproduksi oleh industri kecil atau rumah tangga dan dijual di supermarket sehingga mudah di dapatkan (Nuraida, 2015). Dilansir dari [Republika.com](http://Republika.com), hasil Mudzakarah LP POM MUI pada 1993 menyatakan bahwa minuman beralkohol merupakan minuman yang mengandung alkohol. Dibuat dengan cara fermentasi dari berbagai bahan baku nabati yang mengandung karbohidrat atau sengaja ditambahkan alkohol di dalamnya. Bila air tape ketan dipisahkan dari padatnya maka sudah dapat dikatakan sebagai minuman yang beralkohol. Sebaliknya, kalau masih dalam bentuk aslinya, yaitu tape ketan, tidak termasuk dalam golongan itu, sehingga tape ketan dapat dinikmati berbagai kalangan.

Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa tape ketan merupakan salah satu makanan yang dianggap tabu untuk di konsumsi oleh ibu hamil karena dipercaya dapat menyebabkan keguguran (Sholihah, 2014). Penelitian lain yang dilakukan untuk mengetahui gambaran sosial dan budaya serta pengetahuan ibu hamil tentang kehamilan di Desa Percut Kecamatan Percut Sei Tuan Kabupaten Deli Serdang mengungkapkan bahwa 14 dari 54 atau sebesar 25,92 % ibu hamil di desa tersebut

berpantangan memakan tape ketan selama masa kehamilannya (Pasaribu, 2014). Namun belum terdapat penelitian lebih lanjut mengenai efek alkohol yang terkandung dalam tape ketan terhadap plasenta. Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian mengenai efek pemberian tape ketan pada plasenta tikus bunting (*Rattus norvegicus strain Wistar*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian air tape ketan putih yang mengandung alkohol terhadap berat dan histopatologi plasenta tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*)?

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui adanya pengaruh pemberian air tape ketan putih yang mengandung alkohol terhadap berat dan histopatologi plasenta pada tikus.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kadar alkohol pada air tape ketan putih menggunakan alat kromatografi gas.
2. Untuk mengetahui rata-rata berat plasenta tikus yang diberi air tape ketan putih.
3. Untuk mengetahui adanya perubahan histologi zona labirin plasenta tikus yang diberi air tape ketan putih.
4. Untuk mengetahui dosis alkohol pada air tape ketan putih yang paling berpengaruh terhadap perubahan berat plasenta dan histologipatologi pada tikus.

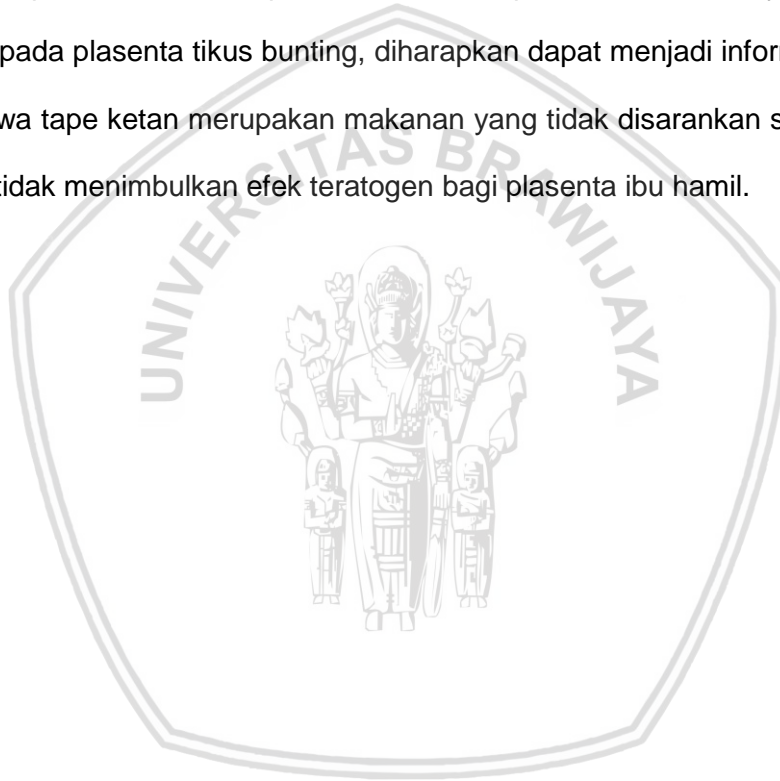
## **1.4 Manfaat**

### **1.4.1 Manfaat Akademis**

Menambah pengetahuan mengenai konsumsi tape ketan saat kehamilan, salah satunya mengetahui efek teratogen pada plasenta tikus bunting.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Bila pemberian air tape ketan dalam penelitian ini menyebabkan efek teratogen pada plasenta tikus bunting, diharapkan dapat menjadi informasi untuk ibu hamil bahwa tape ketan merupakan makanan yang tidak disarankan saat kehamilan sehingga tidak menimbulkan efek teratogen bagi plasenta ibu hamil.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

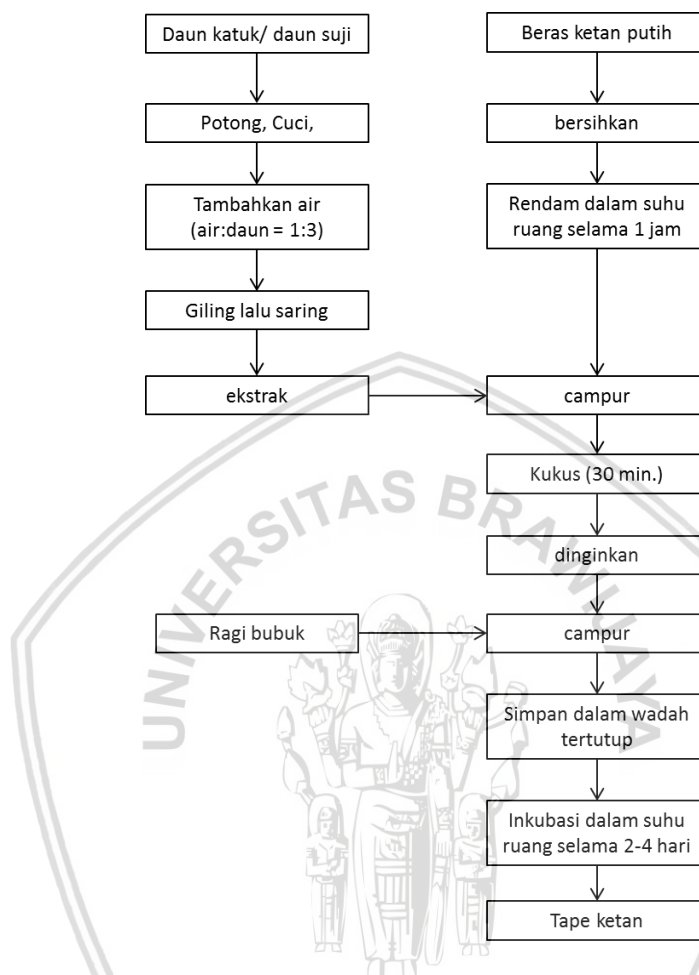
### 1.1 Tape Ketan Putih



Gambar 2.1 Tape Ketan Putih (sumber: Boga, Y. 2008. Kue-Kue Indonesia)

Tape ketan adalah olahan beras dengan rasa manis-asam beralkohol yang terbentuk dari jamur amilolitik dari jenis *A.rouxii* dan setidaknya satu ragi jenis *E. burtonii* yang menghidrolisis beras (pati) ke maltosa dan glukosa dan memfermentasi gula menjadi alkohol dan asam organik, yang memberikan rasa dan aroma khas (Steinkraus, 1996). Tape ketan dikonsumsi langsung tanpa pengolahan lebih lanjut sebagai hidangan pembuka atau sebagai pencuci mulut dan dapat digunakan sebagai bahan untuk membuat kue. Terdapat dua jenis tape ketan, yaitu tape ketan hitam (ungu) dan tape ketan putih. Tape ketan putih sering berwarna hijau yang merupakan hasil dari penambahan ekstrak daun katuk atau daun pandan (Nuraida, 2015).

### 1.1.1 Cara Pembuatan Tape Ketan



Gambar 2.2 Cara Membuat Tape Ketan Putih (sumber: Nuraida, 2015. Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia)

Keterangan gambar : Beras ketan putih dicuci kemudian direndam selama 1 jam. Beras ketan kemudian dikukus selama 30 menit dan didinginkan. Setelah dingin, campurkan ragi bubuk ke dalam beras ketan, lalu simpan didalam wadah tertutup dan inkubasi selama 2-4 hari.

Proses produksi untuk tape ketan diuraikan pada gambar 2.2. Langkah awal yang dilakukan adalah menginokulasi beras ketan kemudian ditempatkan dalam wadah, dan ditutupi dengan daun pisang. Wadah penyimpanan yang digunakan untuk



fermentasi tape ketan dapat berupa plastik, enamel atau kaca. Di beberapa daerah, sebagian kecil dari beras diinokulasi dan dibungkus menggunakan daun jambu air atau daun pisang dan ditempatkan dalam wadah plastik atau ember. Beras yang telah diinokulasi kemudian disaring dan diinkubasi pada suhu kamar (25°-30°C) selama 2-4 hari. Setelah 1 hari inkubasi, biasanya hanya terasa sedikit manis dengan kandungan alkohol yang masih rendah. Dengan waktu fermentasi lebih lama, tekstur menjadi lebih lembut dan menimbulkan rasa yang khas (Nuraida, 2015).

### 1.1.2 Kandungan Dalam Tape Ketan

Beras ketan putih mengandung lebih dari 80% karbohidrat, terutama pati (Nuraida, 2015). Kandungan karbohidrat beras ketan sangat tinggi dibanding protein, lemak dan vitamin. Karbohidrat mempunyai peranan penting dalam menentukan karakteristik bahan makanan, misalnya rasa, warna, tekstur dan lain-lain (Haryadi, 2013).

Tabel 2.1 Kandungan Beras Ketan Putih (Nuraida, 2015)

| KOMPOSISI (G KG <sup>-1</sup> DALAM KEADAAN BASAH ) |             |
|---|-------------|
| KOMPONEN  | KETAN PUTIH |
| Air   | 105         |
| Energi (kkal)                                       | 3700        |
| Protein   | 68          |
| Lemak total   | 5,5         |
| Karbohidrat   | 820         |
| Serat   | 28          |

|     |     |
|-----|-----|
| Ash | 4,9 |
|-----|-----|

### 1.1.3 Kandungan alkohol pada tape ketan putih

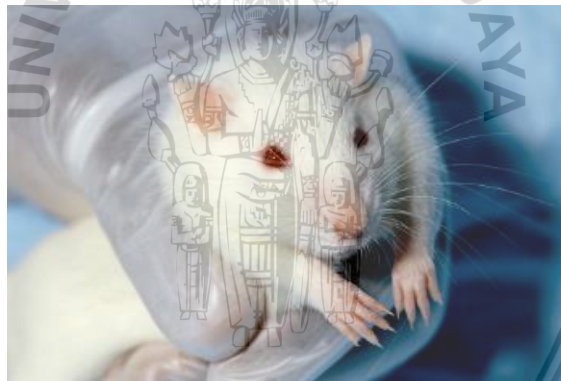
Sebuah penelitian telah dilakukan untuk menentukan kadar alkohol dari hasil fermentasi tape beras ketan. Metode pengukuran yang digunakan untuk analisis kadar alkohol adalah kromatografi gas menggunakan alat *Gas Chromatography Flame Ionization Detector* (GC-FID). Kadar alkohol hari kedua sampai hari ke lima berturut-turut adalah 1,5%, 3,5%, 3,1%, dan 1,3%. Terjadi penurunan kadar alkohol sampai hari kelima fermentasi dan dengan kadar alkohol tertinggi diperoleh pada hari ketiga sebagai kadar optimum yang diperoleh selama proses fermentasi beras ketan dengan ragi tape (Suaniti, 2015).

Sedangkan pada penelitian lain yang membandingkan rata-rata kadar alkohol pada tape beras ketan, ketan hitam, dan singkong dengan menggunakan metode analisis kadar alkohol yang berbeda, didapatkan hasil bahwa kadar alkohol setelah fermentasi hari ke-6 pada tape beras ketan putih paling tinggi (11,00%), dibanding tape ketan hitam (8,94%) dan singkong (6,92%). Hal tersebut dikarenakan kandungan karbohidrat (zat pati) pada masing-masing bahan fermentasi akan menghasilkan kadar alkohol yang berbeda pula. Beras ketan putih mempunyai kandungan karbohidrat paling banyak (360 kal per 100 g) bila dibandingkan karbohidrat pada ketan hitam (142 kal per 100 g) dan singkong (140 kal per 100 g), sehingga didapatkan kadar alkohol paling tinggi pada tape beras ketan putih (Yulianti, 2014).

## 1.2 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Berikut taksonomi dari tikus putih:

Kingdom : *Animalia*  
Filum : *Chordata*  
Kelas : *Mamalia*  
Ordo : *Rodentia*  
Famili : *Muridae*  
Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus norvegicus* (Suckow, 2006).



Gambar 2.3 *Rattus norvegicus* strain wistar (sumber: Johnson, 2012. Laboratory Mice And Rats)

Tikus laboratorium berasal dari spesies *Rattus norvegicus*. Dibandingkan dengan mencit, tikus lebih besar, lebih galak, dan lebih tahan terhadap berbagai penyakit. Tikus Sprague-Dawley dan Wistar adalah dua strain tikus yang paling sering digunakan untuk percobaan (Johnson, 2012). Dua karakteristik yang membedakan

tikus putih dengan binatang percobaan yang lain adalah tikus tidak dapat memuntahkan makanan karena susunan anatomi esophagus yang menyatu di perut, dan tikus tidak mempunyai kantung empedu. Kelebihan dari tikus putih sebagai binatang percobaan antara lain bersifat omnivora (pemakan segala) serta mempunyai jaringan dan kebutuhan gizi yang hampir sama dengan manusia. Tikus percobaan strain wistar sangat mudah beradaptasi dengan lingkungannya.

Tikus putih jenis *Rattus norvegicus* sejak dulu sudah sering digunakan sebagai hewan uji laboratorium karena sistem anatomi fisiologi dari organ-organ hewan tersebut hampir sama dengan fungsi anatomi organ manusia (Tutik, 2012). Tikus adalah mamalia *polyestrua*, dimana mereka secara spontan berovulasi dengan interval antara parturisi pendek yang hanya membutuhkan waktu 21 hari. Keistimewaan lainnya pada tikus yang membuat spesies ini bermanfaat untuk penelitian reproduksi adalah siklus estrus yang pendek, yaitu hanya berlangsung selama 4-5 hari. Setiap hari seekor tikus dewasa membutuhkan makanan antara 12-20 gr, serta minum air antara 20-45 ml, serta mineral, besi sebesar 35 mg/kg (Syari, 2012).

Tabel 2.2 Konversi Dosis Hewan Percobaan Dengan Manusia (Harmita, 2008)

| Hewan Percobaan | Mencit<br>20 g | Tikus<br>200 g | Marmut<br>400 g | Kelinci<br>1,5 kg | Kucing<br>1,5 kg | Kera<br>4 kg | Anjing<br>12 kg | Manusi<br>a 70 kg |
|-----------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|------------------|--------------|-----------------|-------------------|
| Mencit 20 g     | 1,0            | 7,0            | 12,23           | 27,80             | 29,7             | 64,10        | 124,20          | 387,9             |
| Tikus 200g      | 0,14           | 1,0            | 1,74            | 3,9               | 4,20             | 9,20         | 17,80           | 56,0              |
| Marmut 400g     | 0,08           | 0,57           | 1,0             | 2,25              | 2,40             | 5,20         | 10,20           | 31,50             |

|                |        |       |       |      |       |      |      |       |
|----------------|--------|-------|-------|------|-------|------|------|-------|
| Kelinci 1,5 kg | 0,04   | 0,25  | 0,44  | 1,0  | 1,08  | 2,40 | 4,50 | 14,20 |
| Kucing 1,5 kg  | 0,03   | 0,23  | 0,41  | 0,92 | 1,0   | 2,20 | 4,10 | 13,0  |
| Kera 4kg       | 0,016  | 0,11  | 0,19  | 0,42 | 0,43  | 0,1  | 1,9  | 6,1   |
| Anjing 12kg    | 0,008  | 0,06  | 0,10  | 0,22 | 1,24  | 0,52 | 1,0  | 3,10  |
| Manusia 70kg   | 0,0026 | 0,018 | 0,031 | 0,07 | 0,076 | 0,16 | 0,32 | 1,0   |

### 1.2.1 Siklus Estrus pada Tikus

#### 1.2.1.1 Pubertas pada Tikus

Onset usia pubertas sangat bervariasi antara strain dan dipengaruhi oleh beberapa faktor. Sejumlah pengukuran telah diusulkan untuk memprediksi onset pubertas. Pubertas biasanya terjadi pada kira-kira 50% dari berat badan dewasa, namun panjang tubuh 148 sampai 150 mm adalah indikator pubertas yang lebih dapat diandalkan daripada usia atau berat badan. Pubertas pada tikus betina disesuaikan dengan pembukaan vagina dan proestus pertama. Pembukaan lubang vagina terjadi dari 33-42 hari setelah kelahiran, dengan berat badan sekitar 100 gram. Siklus estrus teratur dimulai sekitar satu minggu setelah pembukaan lubang vagina (Suckow, 2006).

#### 1.2.1.2 Siklus Estrus

Siklus estrus tikus adalah kejadian interatif yang terwujud dalam perubahan anatomi, endoskrinologi, fisiologi, dan perilaku, yang semuanya terkoordinasi dalam memberikan fekunditas yang maksimal. Pada tikus yang tidak dikelompokkan, rangkaian siklus estrus berlangsung kira-kira 4 hari, ditandai dengan variasi hormonal dan perubahan morfologis dan fisiologis saluran reproduksi. Terdapat empat tahap siklus dengan durasi yang bervariasi, yaitu:

1. Proestrus : adalah periode dimana perkembangan pre dan peri ovulatori terjadi pada ovarium, serta sintesis dan sekresi estrogen. LH melonjak selama proestrus yang merangsang folista preovulasi untuk berovulasi dan membentuk corpora lutea.
2. Estrus: adalah interval singkat dimana betina menerima jantan dan saat ovulasi terjadi.
3. Metestrus : adalah fase luteal awal. Selama metestrus, corpora lutea mengsekresi progesterone.
4. Diestrus : adalah fase dimana progesteron merupakan pengaruh hormonal yang dominan. Tingkat progeksione menurun selama diestrus, dan perkembangan folikel dikaitkan dengan peningkatan estradiol-17 $\beta$ .

Siklus ini selesai saat puncak estrogen selama proestrus merangsang releotropin gonadotropin yang memicu ovulasi (Croy, 2014)

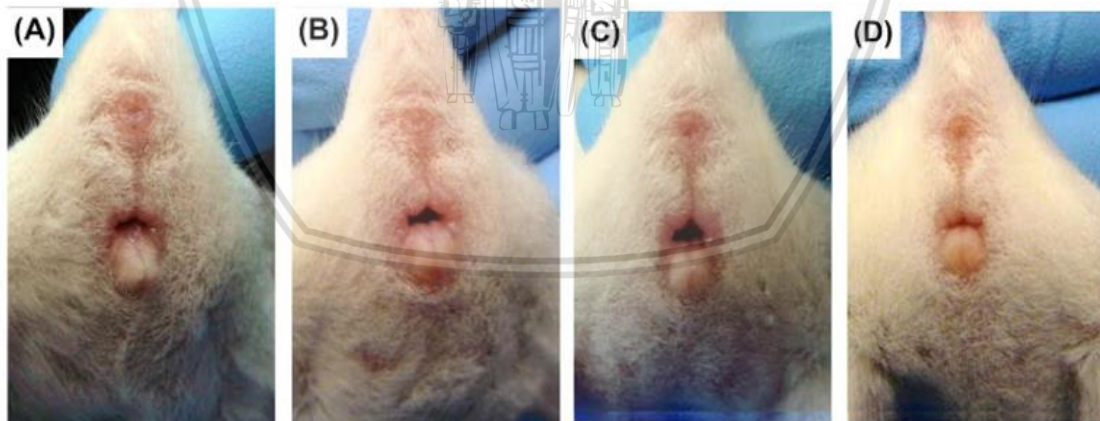
Fase estrus dapat disinkronisasi berdasarkan fenomena biologis berupa *Lee Boot effect*, *Pheromone effect*, dan *Whitten effect*. Fenomena biologis diterapkan selama adaptasi. Pertama menerapkan *Lee Booth effect*, yaitu beberapa tikus putih betina ditempatkan dalam satu kandang. Kedua, menerapkan *Pheromone effect*, yaitu memberikan paparan bau-bauan yang berasal dari tikus putih jantan dengan memberikan sekam dari kandang tikus putih jantan ke kandang tikus betina. Ketiga, terjadi *Whitten effect* yaitu 72 jam setelah *Pheromone effect*, tikus betina mengalami fase estrus (Fitri *et al.*, 2015).



### 1.2.1.3 Identifikasi Siklus Estrus

Metode penentuan tahap siklus estrus sangat penting untuk program pengembangbiakan tikus. Metode ini memungkinkan peneliti untuk menentukan fenotip reproduksi dan menyelidiki tanda reproduktif (Croy, 2014). Sejumlah metode telah digunakan untuk mendeteksi fase siklus estrus. Teknik tersebut berkisar dari pengamatan perubahan perilaku, pemeriksaan sitologi vagina hingga pengukuran impedansi listrik pada vagina.

Durasi fase estrus adalah 9 sampai 15 jam dan didefinisikan sebagai periode ketika betina reseptif secara seksual dan akan memungkinkan sanggama. Perubahan perilaku yang mengindikasikan penerimaan tersebut antara lain peningkatan aktivitas berjalan, getaran telinga dan lordosis (dorsofleksi kolom vertebral) pada rangsangan pelvis. Vaginal akan tampak kering selama estrus dan vulva bengkak (Suckow, 2006).



Gambar 2.4 Gambaran visual pada masing –masing siklus pada vulva. (sumber:Croy, 2014)

Keterangan Gambar: (A) diestrus; lubang vagina kecil dan labia vulva tidak bengkak, (B)proestrus; pembukaan vagina (labia dan komisura vulva) membengkak dan lembab, (C)estrus; pembukaan vagina (labia lateral dan komisura vulva) membengkak. Mukosa vagina lebih pucat dan kering pada proberus. Jika terdapat keputihan lembut pada permukaan mukosa vagina, estrus telah berlalu dan betina tidak dapat menerima perkembangbiakan, (D)metestrus; lubang vagina kecil sampai tertutup, dan labia vulva tidak bengkak.



Tahap siklus estrus juga dapat dievaluasi dengan pengamatan visual atau sitologi vagina. Perubahan dalam sitologi vagina berkorelasi dengan perubahan visual pada mukosa vagina dan vulva. Gambaran visual dari masing masing siklus terlihat pada gambar 2.4.

#### 1.2.1.4 Tikus Bunting

Kopulasi pada tikus paling sering terjadi pada akhir dari siklus gelap. Tikus jantan akan memulai perilaku kawin dengan mengendus genitalia betina yang sedang dalam fase estrus. Sang betina akan menerima dengan ciri melompat dan kuping yang bergetar (Suckow, 2006).

Setelah kawin, sekresi dari saluran reproduksi tikus jantan akan mengeras di saluran reproduksi wanita, yang disebut *copulation plug/vaginal plug*. Hal tersebut merupakan indikasi dari perkawinan tapi bukan merupakan indikasi pembuahan atau kehamilan. *Plug* akan terjatuh secara alami pada hari kawin dan terdeteksi paling andal dalam 12 jam pertama setelah sanggama. Posisi *plug* bisa berkisar dari yang sangat dalam di vagina hingga sangat dangkal (Croy, 2014).



gambar 2.5 Vaginal plug (sumber: Croy, 2014)

Vaginal plug tidak bertahan lama pada tikus, sehingga hal tersebut bukan merupakan indikator yang dapat diandalkan untuk mengidentifikasi pembuahan. Pap smear vagina yang mendeteksi sperma positif pada hewan biasanya digunakan untuk mengkonfirmasi perkawinan. Janin dapat teraba sejak usia kehamilan 10 hari, namun palpasi lebih akurat setelah 12 hari. Pembesaran abdomen biasanya terlihat pada hari ke 13 kehamilan. Pada hari ke 14, perkembangan mammae dan pembesaran puting susu dapat diamati. Usia gestasi rata-rata 21-23 hari dari kopulasi sampai kelahiran. Implantasi blastokista yang menetas terjadi pada hari ke 5 kehamilan (Suckow, 2006).

### 1.2.2 Plasenta Tikus Normal

Secara historis, tikus telah menjadi model yang penting untuk mempelajari sebagian besar aspek reproduksi. Kompartemen uteroplasenta pada tikus mirip dengan mencit dan memiliki persamaan dan perbedaan dengan organisasi kompartemen uteroplasenta dari spesies lain dengan plasenta hemokorial (Ain, 2006).

Pada hewan pengerat, plasenta berbentuk diskoid dengan ukuran sekitar 2 cm x 0,6 cm. Plasenta sepenuhnya berkembang pada tikus hari ke 14 dari periode kehamilan 21-24 hari (Treating, 2018). Norman dan Bruce (1979) telah melakukan 2 buah penelitian yang mengungkapkan bahwa rata rata berat plasenta tikus pada usia kehamilan 13, 17 dan 22 hari adalah sebagai berikut:

Tabel 2.3 Rata Rata Berat Plasenta Tikus (Norman, 1979)

| Usia Kehamilan (Hari) | Rata Rata Berat Plasenta |
|-----------------------|--------------------------|
| 13                    | 0.051 gram               |
| 17                    | 0.250 gram               |
| 22                    | 0.463 gram               |

Tikus memiliki dua struktur plasenta, yaitu plasenta *choriovitelline* dan plasenta *chorioallantoic*. Plasenta *choriovitelline* terdiri dari sel trofoblas yang menempel pada membran basal dan berhubungan dengan desidua kapsularis. Plasenta ini terdegradasi dan hilang pada hari ke 14 kehamilan. Plasenta *chorioallantonic*, yang terlokalisasi di daerah mesometrium rahim, berkembang sebelum degenerasi plasenta *choriovitelline*. Plasenta *chorioallantoic* adalah plasenta utama pada mamalia selama pertengahan hingga akhir kehamilan dan terbentuk dari bendungan endometrium dan trofektoderm embrio. Plasenta *chorioallantoic* definitif menunjukkan berbagai bentuk berbeda antara spesies, seperti difus (kuda, babi), diskoid (manusia, hewan pengerat), zonaria (anjing, kucing) dan multikotipleda (sapi, domba). Terdapat tiga tipe utama berdasarkan hubungan antara korion dan dinding uterus : (1) tipe epitheliochorial (kuda, babi, sapi), (2) tipe endotheliochorial (anjing, kucing) dan (3) tipe hemokorial (manusia, hewan pengerat) (Furukawa, 2011).

Plasenta *chorioallantonic* terdiri dari dua zona yang disebut zona junctional dan zona labirin. Zona junctional, terdiri dari sel trofoblas dan saluran vaskular ibu, terletak berdekatan dengan desidua basalis. Zona labirin terdiri dari sel trofoblas, saluran vaskular ibu dan pembuluh janin dan terletak berdekatan dengan embrio

(Krinke, 2000). Sirkulasi uteroplasental mirip dengan manusia, meskipun pada hewan pengerat, interdigitasi maternal-fetal adalah labirin. Hewan pengerat dan manusia keduanya memiliki plasenta hemokorial, di mana darah ibu bersentuhan langsung dengan selaput janin melalui lapisan labirin. Lapisan yang diturunkan dari embrionik meliputi labirin, spongiotrofoblas, dan *trophoblast giant cell*. Lapisan desidua sepenuhnya berasal dari jaringan ibu. Komponen embrional dari plasenta, lapisan labirin, lapisan spongiotrofoblas, dan lapisan *trophoblast giant cell* (Treating, 2018).

### 1.2.3 Zona Labirin Pada Plasenta Tikus

Lapisan labirin adalah struktur yang sangat vaskularisasi yang terdiri dari trofoblast labirin; endotelium embrional, yang membentuk pembuluh darah; dan eritrosit embrional. Sel-sel darah ibu mengisi ruang-ruang yang dibatasi oleh trofoblast labirin. Tidak jarang melihat mineralisasi di lapisan labirin sebagai temuan normal, atau pada vili plasenta manusia pada jangka waktu tertentu.

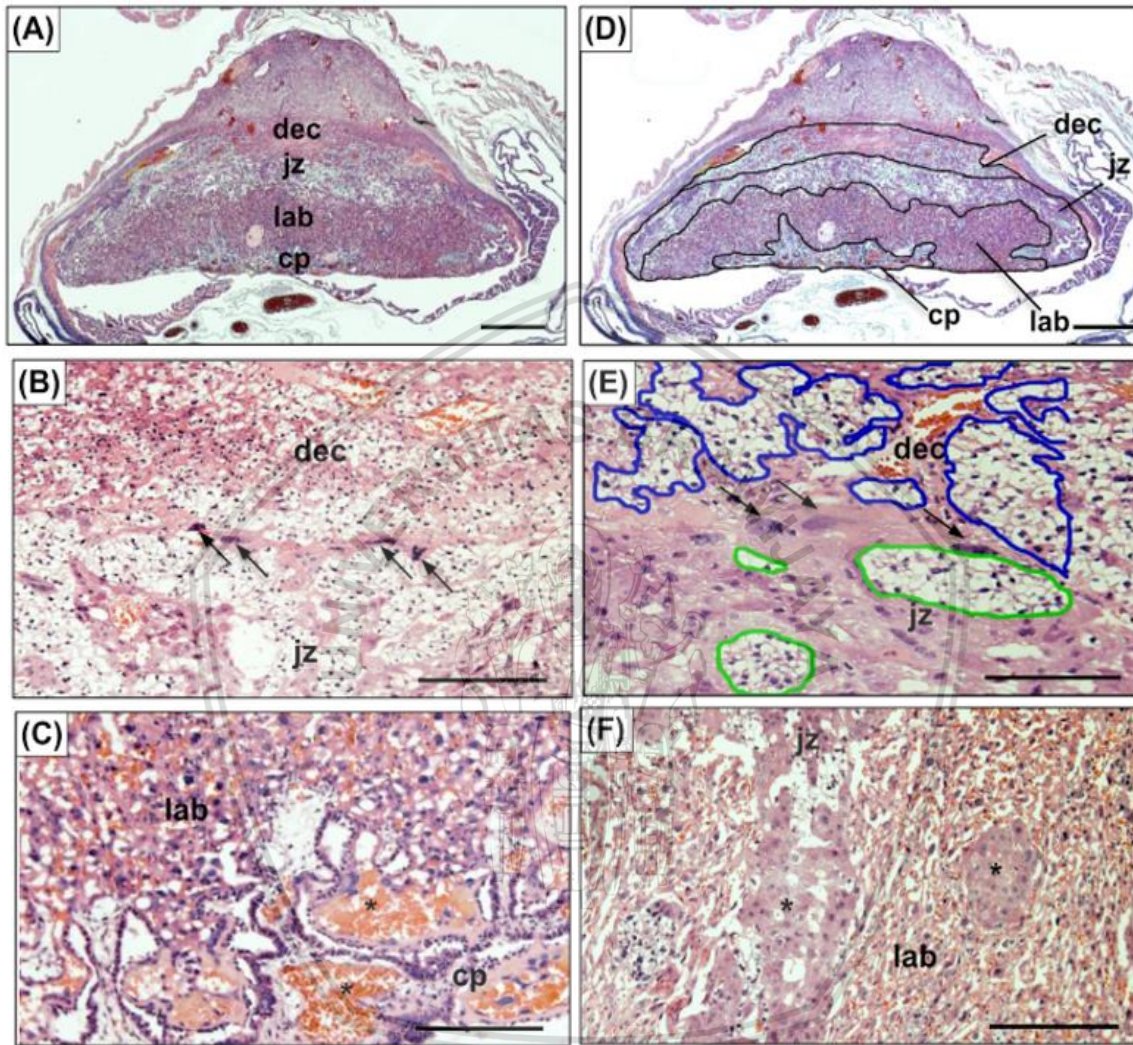
Zona labirin mengandung sinusoid maternal dan septum trofoblas, yang tersusun dari *trilamin trophoblastic epithelium* dan kapiler janin. Sinusoid ibu penuh dengan aliran darah ibu antara septa trophoblastik tanpa endotelium. Epitelium trofoblas, yang bersentuhan langsung dengan darah ibu, disebut sebagai sitotrofoblas. Sitotrofoblas dapat dengan mudah dilihat oleh inti bulat yang besar dengan nukleolus menonjol. Sel ini menampilkan banyak mikrovili di permukaannya dan berisi banyak vesikula *pinocytotic* pada posisi basal. Di bawah lapisan trofoblas ini, ada dua lapisan sinsitiotrofoblas (sinsitiotrofoblas I dan sinsitiotrofoblas II dari sisi sinusoid maternal). *Gap junction* hadir di antara dua lapisan sinsitiotrofoblas ini. Lamin

basal terletak di antara lapisan II sinsitiotrofoblas dan endotelium kapiler janin. Kelanjutan dari lapisan syncytiotrophoblasts ini menyediakan penghalang plasenta. Kapiler janin adalah tipe fenestrated. Pori-pori dapat berkontribusi pada permeabilitas kapiler janin yang tinggi. Darah ibu dan janin datang sangat berdekatan, dan sebagian besar pertukaran bahan maternofetal dilakukan di zona labirin. Aktivitas proliferaatif dari trofoblas ini mencapai puncaknya dan mengurangi secara bertahap menuju kehamilan terlambat. Zona labirin menjadi bagian utama plasenta dengan perkembangan kehamilan, meskipun bagian lain dari plasenta mengalami regresi setelah midgestasi.

Pada manusia, populasi trofoblas melapisi vili korionik, tempat pertukaran ibu-janin. Lapisan terluar, syncytiotrophoblast, adalah syncinium multinuklir sejati yang diisi ulang oleh sel-sel yang mendasari dengan kapasitas proliferaatif, sitotrofoblas. Saat sekering sitotrofoblas bergabung dengan syncytiotrophoblast, nukleusnya mengalami apoptosis dan berkelompok dengan nuklei lain. "Simpul sinkronik" ini terjepit ke dalam sirkulasi maternal. Hebatnya, syncytiotrophoblast adalah sekitar 10 m<sup>2</sup> di daerah dan mengandung lebih dari 10 miliar inti, di mana semua pertukaran nutrisi dan gas antara ibu dan janin terjadi. Populasi kedua yang ada di dalam lempeng basal adalah trofoblas ekstrasvili, yang menyerang desidua. Trofoblas luar biasa juga menyerang arteri-arteri spiral, menghancurkan otot polos dan endotelium, dan juga berdiferensiasi menjadi sel-sel trofoblast raksasa di persimpangan endometrium-miometrium, serupa dengan yang digambarkan di atas untuk hewan pengerat.

Morfologi plasenta tikus secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar berikut:



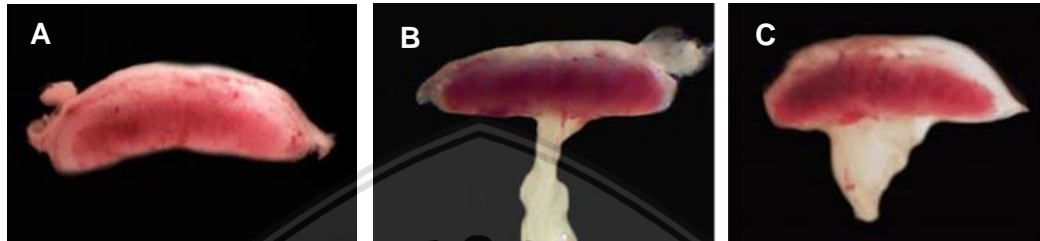


Gambar 2.6 Pewarnaan H&E pada penampang plasenta tikus secara makroskopis dengan skala 1000 $\mu$ m (A dan D), dan 200 $\mu$ m (B, C, E, dan F) (sumber: Croy, 2014)

Keterangan gambar: (A) H&E *stained* pada penampang garis tengah menunjukkan empat lapisan plasenta, yaitu desidua (dec), zona junctional (jc), labirin (lab), dan plat chorionic (cp) dan (D) yang dipisah oleh garis, (B) zona desidua dan junctional dipisahkan oleh lapisan *trophoblast giant cell* parietal (P-TGC), (C) pelat korionik berisi

pembuluh chorionik (arterisks). Pembuluh ini menghubungkan arterioles janin dan kapiler di labirin dengan bejana tali pusar, (E) zona junctional terdiri dari tiga jenis sel trofoblast; P-TGC, sel spongiotropholast, dan sel trofoblas glikogen, (F) proyeksi seperti jari dari zona junctional sering terlihat di labirin.

Sedangkan secara makroskopis plasenta pada usia kehamilan 15-19 hari dapat dilihat dari gambar berikut:



Gambar 2.6 Plasenta dilihat dari permukaan yang dipotong, permukaan maternal di bagian atas dan permukaan janin di bagian bawah pada usia kehamilan 15-19 hari (sumber: Croy, 2014)

Keterangan gambar: A-C berurutan plasenta tikus pada usia kehamilan 15, 16, 17, 18, dan 19 hari

### 1.3 Plasenta

#### 1.3.1 Fisiologi dan Anatomi Plasenta

Plasenta merupakan organ yang sangat penting untuk dapat memberikan nutrisi melalui sirkulasi retroplasenta sehingga janin dapat tumbuh kembang dengan sempurna. Plasenta mempunyai sekitar 16-20 kotiledon yang selanjutnya bercabang-cabang sehingga keseluruhannya mempunyai luas sekitar 11 meter persegi. Luas tersebut secara aktif dapat melakukan pertukaran nutrisi,  $\text{CO}_2$ , dan  $\text{O}_2$  antara janin dengan sirkulasi maternal. Plasenta mempunyai dua permukaan: sisi fetalis, yang ditutupi oleh lapisan amnion, dan sisi maternalis yang berhadapan dengan desidua



dan membentuk sirkulasi retroplasenta. Bentuk plasenta bervariasi dan sebagian besar mempunyai lebar sekitar 15-20 cm, dengan ketebalan sekitar 2,5-3 cm, berat sekitar 1/6 berat janin atau rata-rata 500 gram (Manuaba, 2007).

### 1.3.2 Fungsi Plasenta

Plasenta adalah organ maternal-fetal dengan villus *chorionic* yang memungkinkan transfer metabolit dan obat terbatas di area transfer khusus. Plasenta mengembangkan fungsi pernapasan, nutrisi dan ekskresi ketika organ janin matang, serta merupakan organ endokrin yang penting. Plasenta berfungsi sebagai pengganti paru-paru janin untuk pertukaran gas, saluran gastrointestinal untuk penyerapan nutrisi, dan ginjal untuk pengaturan volume cairan dan eliminasi metabolit limbah, sementara organ-organ tersebut berkembang. Plasenta juga bertindak sebagai organ endokrin yang melepaskan hormon steroid dan peptida ke dalam kedua sirkulasi. Transfer zat yang melintasi *barrier* maternal-fetal tergantung pada ketebalan dan luasnya *barrier* serta gradien konsentrasi zat, atau adanya mekanisme transfer aktif (Donnelly, 2016).

Plasenta harus memasok segala sesuatu yang dibutuhkan oleh embrio dan janin untuk tumbuh dan matang. Berbagai sistem yang kompleks terdapat di dalam jaringan plasenta untuk memfasilitasi perpindahan nutrisi ke janin dan kemudian membuangnya. Obat-obatan seperti kafein, alkohol, dan nikotin, serta virus seperti rubella dan sitomegalo virus dapat melewati plasenta dan memberi pengaruh buruk pada janin (Reeder, 2013).

## 1.4 Alkohol

### 1.4.1 Definisi

Alkohol adalah suatu senyawa organik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) sebagai gugus fungsionalnya (Arsyat, 2001). Alkohol merupakan cairan yang tidak berwarna, jernih, mudah menguap, mudah terbakar dengan nyala biru yang tidak berasap, rasa panas membakar. Proses pembuatan alkohol dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

1. Cara sintesis yaitu dengan melakukan reaksi kimia elementer untuk mengubah bahan baku menjadi alkohol.
2. Cara fermentasi yaitu dengan menggunakan aktivitas mikroba. Mikroba yang berperan dalam pembuatan alkohol adalah ragi yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (jenis utama) dan beberapa jenis lainnya seperti, *Saccharomyces anamesis*.

Proses pembuatan alkohol harus dalam keadaan pH rendah (susunan asam), maka biasanya ada penambahan asam selama proses yaitu dengan asam sulfat. Sedangkan suhu yang diperlukan berkisar antara 30-37°C (Haryadi, 2013). Alkohol mempengaruhi sejumlah sistem, termasuk sistem endokrin ibu dan janin, ekspresi protein, dan perkembangbiakan dan fungsi sel. Alkohol dapat dengan bebas melintasi plasenta, sehingga dapat memberi efek langsung pada sel-sel yang terpapar (Snow, 2006).

Alkohol saat ini sudah beredar luas di pasaran Indonesia. Berikut merupakan jenis-jenis minuman beralkohol serta kadar alkohol yang diperbolehkan menurut standar mutu BPOM:

Tabel 2.4 Jenis Minuman Beralkohol Dan Kadar Alkohol Yang Diperbolehkan Menurut Standar Mutu BPOM (Sumber: Perka BPOM No.14 Tahun 2016)

| Jenis Minuman                                 | Kadar Alkohol Yang Diperbolehkan |
|---|----------------------------------|
| Bir   | hingga 0,5% - 8%                 |
| Bir Hitam (Stout)                             | 2%- 8%                           |
| Cider atau Anggur Apel                        | tidak lebih dari 8,5%            |
| Perry   | tidak kurang dari 8,5%           |
| Anggur (Grape wine)                           | 7%-24%                           |
| Still grape wine                              | 7%-24%                           |
| Anggur sparkling dan semi sparkling           | 7%-24%                           |
| Anggur fortifikasi, liqueur, dan anggur manis | 7%-24%                           |
| Anggur Buah                                   | 7%-24%                           |
| Anggur Beras                                  | 7%-24%                           |
| Anggur Beras Ketan                            | 7%-24%                           |
| Anggur Brem Bali                              | 7%-24%                           |
| Anggur Sayur                                  | 7%-24%                           |
| Tuak  | 7%-24%                           |
| Anggur tonikum kininna                        | 7%-24%                           |
| Mead, Anggur Madu                             | 7%-24%                           |
| Minuman spirit                                | > 15%                            |
| Brandy  | tidak kurang dari 36%            |

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| Brandy Buah                         | tidak kurang dari 36%                         |
| Cognac                              | tidak kurang dari 40%                         |
| Rum                                 | tidak kurang dari 37,5%                       |
| Whisky                              | tidak kurang dari 40%                         |
| Gin                                 | tidak kurang dari 37,5%                       |
| Vodka                               | tidak kurang dari 37,5%                       |
| Tequila                             | 35% - 55%                                     |
| Arak                                | tidak kurang dari 30%                         |
| Genever                             | tidak kurang dari 30%                         |
| Liqueur                             | tidak kurang dari 15%                         |
| Soju                                | 20-35 %                                       |
| Minuman ringan beralkohol           | kurang dari 1%                                |
| Anggur rendah alkohol               | <i>reduced alcohol wine</i> 1,2% - 6,5%       |
|                                     | <i>low alcohol wine</i> tidak lebih dari 1,2% |
| Koktail                             | 7%-24%  |
| Anggur (Wine                        | 7%-24%  |
| Cocktail)                           | 7%-24%  |
| Meat Wine                           | 7%-24%  |
| Anggur mengandung bahan pangan lain | 7%-24%  |

#### 1.4.2 Metabolisme Alkohol pada Kehamilan

Konsentrasi alkohol di dalam tubuh ditentukan oleh *total body water* (49% untuk wanita), gram alkohol yang dikonsumsi, dan durasi paparan (Heller, 2014).

Alkohol dengan cepat didistribusikan dalam bentuk molekul kecil yang larut dalam air. Volume alkohol yang terdistribusi adalah sekitar 0,45-0,6 L/kg. Distribusi di seluruh tubuh tergantung pada aliran darah ke berbagai organ dan jaringan (Zelner, 2013).

Alkohol dimetabolisme dalam plasenta, janin, dan ibu, tetapi pada tingkat yang berbeda. Alkohol dimetabolisme melalui jalur oksidatif dan non-oksidatif, dengan sekitar 85% dari alkohol dimetabolisme di hati melalui oksidasi enzimatik (Zelner, 2013). Metabolisme oksidatif merupakan jalur utama untuk metabolisme alkohol dalam hati dan terjadi melalui tiga mekanisme yang berbeda. Alkohol Dehidrogenase (ADH) merupakan mekanisme utama, yang mencakup 90-95% dari metabolisme alkohol dalam hati. Reaksi ini menghasilkan biotransformasi dalam produksi Asetaldehida, metabolit yang sangat beracun, yang kemudian dimetabolisme oleh mitokondria Aldehida Dehidrogenase (ALDH) menjadi Asetat dan akhirnya menjadi CO<sub>2</sub> dan air, untuk diekskresi dari tubuh (Heller, 2014).

Penyebaran alkohol melalui plasenta ke dalam kompartemen janin merupakan jalur awal paparan alkohol saat prenatal. Kegiatan enzim plasenta biasanya relatif lebih rendah bila dibandingkan dengan hati ibu dan janin, sehingga kurang berperan dalam metabolisme oksidatif alkohol atau Asetaldehida untuk melindungi janin terhadap efek berbahaya alkohol (Heller, 2014).

Aktivitas ALDH di plasenta muncul pada tingkat rendah dan diduga berasal dari sitoplasma. Sementara itu, aktivitas enzim sitosol plasenta manusia terhadap Asetaldehid juga sangat rendah, hampir 100 kali lebih rendah daripada di hati. Berkurangnya pengikatan Asetaldehid dapat merusak plasenta dan mengganggu

fungsi plasenta. Sementara metabolisme plasenta dapat menghasilkan Asetaldehid dalam sirkulasi janin yang mungkin berbahaya bagi janin (Burd, 2007).

Pada janin tingkat Asetaldehida lebih tinggi daripada kadar dalam darah ibu. Studi lain melaporkan Asetaldehida dalam sirkulasi janin pada konsentrasi sekitar 50% dari tingkat yang ditemukan pada perfusi ibu. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar Asetaldehida dalam plasenta dapat meningkatkan durasi paparan janin (Burd, 2007). Janin memiliki kapasitas metabolisme yang sangat terbatas. Vasokonstriksi plasenta akibat alkohol dapat menurunkan tingkat eliminasi alkohol dari kompartemen janin. Pada usia kehamilan 20 minggu, keratinisasi kulit janin mengurangi permeabilitas kulit janin ke tingkat yang sangat rendah, meningkatkan durasi paparan janin dan menyulitkan eliminasi alkohol dari kompartemen janin. Dua jalur reabsorpsi, yaitu jalur intramembran dan *fetal swallowing*, menciptakan sistem daur ulang dimana sebagian besar alkohol yang diekskresi oleh janin akan diserap kembali ke dalam sistem sirkulasi janin. Ekskresi kembali alkohol oleh janin ke dalam cairan amnion terjadi melalui urine janin, gerakan pernapasan, dan ekskresi hidung. Cairan ketuban kemudian berfungsi sebagai reservoir untuk alkohol dan memperpanjang eksposur janin (Heller, 2014).

#### **1.4.3 Efek Alkohol pada Kehamilan**

Meminum alkohol pada tahap apapun selama kehamilan dapat mempengaruhi perkembangan janin karena alkohol melewati plasenta dari darah ibu ke janin. Konsekuensi paling ekstrim dari alkohol yang mempengaruhi janin adalah keguguran atau kelahiran mati. Dalam kasus lain, bayi dapat dilahirkan dengan efek permanen yang signifikan (Gunsekara, 2014).

Alkohol adalah salah satu agen teratogenik yang paling umum dan konsumsi yang tidak terkontrol selama kehamilan telah banyak dikaitkan dengan efek buruk pada janin yang sedang berkembang, termasuk kelahiran prematur, berat lahir rendah, cacat lahir ganda, dan gangguan perkembangan saraf, yang secara kolektif bernama *Fetal Alcohol Spectrum Disorder* (FASD). Ada bentuk parah dari FASD, yaitu *Fetal Alcohol Syndrome* (FAS), yang merupakan kondisi ireversibel. Sindrom ini ditandai oleh retardasi pertumbuhan intrauterin (IUGR), pola karakteristik fitur wajah abnormal, retardasi fisik dan mental serta cacat penting dalam perkembangan jantung dan paru-paru. FASD saat ini digunakan untuk menggambarkan tingkat deformitas yang lebih rendah yang terkait dengan FAS, kadang-kadang tidak terlalu mencolok kecuali dengan pemeriksaan yang ketat. Meskipun banyak kampanye kesehatan masyarakat dan rekomendasi klinis tentang risiko yang terkait dengan asupan alkohol selama kehamilan, banyak ibu hamil terus menyalahgunakan konsumsi alkohol (Bosco, 2014)

*Fetal Alcohol Spectrum Disorder* (FASD) adalah spektrum defisit, termasuk neuroanatomi, kraniofasial, kardiovaskular, endokrin, metabolik, dan perilaku, yang timbul dari paparan alkohol prenatal. FASD terdiri dari empat kategori diagnostik: sindrom alkohol janin, sindrom alkohol janin parsial, gangguan *neurodevelopmental* terkait alkohol, dan cacat lahir terkait alkohol. Sindrom alkohol janin ditandai dengan penurunan pertumbuhan, anomali wajah, dan kelainan sistem saraf pusat, yang sering termasuk kecacatan intelektual, dan mewakili 10% sampai 15% dari semua gangguan spektrum alkohol janin. FASD adalah penyebab cacat intelektual yang dapat dikenali



dan merupakan faktor risiko yang sama untuk cacat lahir, dan mungkin merupakan salah satu gangguan perkembangan yang paling dapat dicegah (Heller, 2014).

Terdapat hubungan antara paparan alkohol prenatal dan komplikasi kehamilan. Sekitar 15% dari semua kehamilan berakhir dengan aborsi spontan, namun di antara ibu minum yang berat, insidensinya meningkat menjadi 45%. Terjadinya kelahiran mati di antara kehamilan yang terpapar alkohol telah terbukti meningkat enam kali lipat dibandingkan dengan angka kelahiran mati dalam populasi secara keseluruhan. Paparan alkohol prenatal juga meningkatkan risiko prematur dan penurunan pertumbuhan janin (Heller, 2014).

#### **1.4.4 Efek Alkohol Pada Plasenta**

Paparan alkohol dapat menyebabkan vasokonstriksi plasenta yang cepat dan tahan lama. Alkohol menginduksi vasokonstriksi yang meningkatkan resistensi vaskular plasenta-janin dan tekanan perfusi di plasenta. Peningkatan tekanan perfusi dapat mengganggu transportasi oksigen dan menghasilkan asidosis janin. Pengaturan aliran darah di plasenta manusia bergantung pada fungsi Parakrin daripada stimulasi saraf. Selain itu, paparan alkohol terhadap kotiledon plasenta dapat meningkatkan produksi Tromboksan. Tromboksan (vasokonstriktor) dan Prostasiklin (vasodilator) adalah faktor regulasi penting dalam regulasi aliran darah di plasenta. Peningkatan Tromboksan setelah pemberian alkohol dapat menyebabkan pembatasan pertumbuhan intrauterine yang terkait dengan FASD. Dalam jaringan villi plasenta, paparan alkohol ditemukan menginduksi stres oksidatif, yang dapat menurunkan

pelepasan Nitric Oxide (NO). Penurunan NO dapat mempengaruhi regulasi aliran darah plasenta, yang dapat menyebabkan *fetal growth restriction* (Burd, 2007).

*Intrauterine Growth Restriction* (IUGR) adalah ciri utama dari FASD. Pertumbuhan janin tergantung pada pasokan nutrisi plasenta. Paparan alkohol saat kehamilan dapat mengganggu proses plasentasi yang sangat penting untuk membangun interaksi fetomaternal yang dibutuhkan untuk pengiriman nutrisi dan pembuangan limbah janin. Ukuran plasenta, morfologi dan aliran darah merupakan penentu penting transfer nutrisi plasenta. Langkah penting dalam membangun interaksi fetomaternal adalah sel trofoblastik invasif harus menginvasi arteri spiral ibu. Proses ini memungkinkan pasokan nutrisi terus menerus melalui plasenta ke janin. Paparan alkohol dapat mengakibatkan jumlah sel trofoblastik invasif tersebut berkurang secara signifikan sehingga transformasi vaskular terganggu (Gundongan, 2015).

Sebuah penelitian telah dilakukan pada 92 wanita di Amerika Serikat untuk menilai efek alkohol terhadap morfologi plasenta. Hasil dari penelitian tersebut menyebutkan bahwa sebanyak 61 wanita (66%) memiliki riwayat penggunaan alkohol selama kehamilan. Kelompok yang terpapar alkohol secara signifikan memilikin rata-rata usia kehamilan dan berat lahir bayi yang lebih rendah, peningkatan skor malperfusi uteroplasental, peningkatan kepadatan sel *cytotrophoblastic villous*, dan *chorangiosis* yang lebih luas pada plasenta (Tai, 2016).

Temuan tingkat *chorangiosis* yang lebih tinggi dan jumlah sel sitotrofoblastik yang lebih banyak pada plasenta yang terpapar alkohol berhubungan dengan skor

malperfusi uteroplasenta yang lebih tinggi. Hubungan *chorangiosis* dengan skor malperfusi uteroplasenta yang tinggi dapat menggambarkan respons kompensasi terhadap tekanan oksigen plasenta yang disebabkan oleh perfusi vaskular ibu yang terganggu. Jumlah sitotrofoblas yang lebih banyak menunjukkan bahwa diferensiasi ke dalam sel *syncytiotrophoblastic* terganggu. Hal tersebut berhubungan dengan hipoksia plasenta seperti yang terjadi pada malperfusi uteroplasenta (Tai, 2016).

#### 1.4.5 Efek Alkohol pada Plasenta Tikus

Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa bobot plasenta menunjukkan peningkatan pada kelompok tikus bunting yang menerima alkohol sebanyak 1 dan 5 g/kg/hari selama kehamilan. Selain itu terdapat perubahan pada histologi plasenta seperti peningkatan jumlah dan ukuran sel raksasa trofoblastik, degenerasi pada spongiotrofoblas, hiperemia di zona basal dan labirin, hiperplasia pada labirin dan vaskularisasi yang tidak teratur (Akay, 2004). Penelitian tersebut didukung oleh penelitian lainnya yang mengungkapkan bahwa tingkat keparahan gangguan pertumbuhan janin berkorelasi dengan kenaikan dosis alkohol.

Berbeda dengan penelitian sebelumnya, hasil pada penelitian yang dilakukan oleh Gundongan,dkk yang mengungkapkan bahwa efek buruk alkohol pada perkembangan plasenta dimediasi oleh: 1) morfogenesis bercabang yang berubah di zona labirin; 2) pengurangan sel prekursor trofoblastik invasif; dan 3) penghambatan adhesi dan motilitas sel trofoblastik, sesuai dengan penurunan ekspresi protein ASPH dan Notch-1. Pemaparan alkohol gestasional mengubah morfologi plasenta dan mengganggu plasentasi dengan cara yang responsif terhadap dosis (Gundongan, 2015).

## 1.5 Etika Penelitian Ilmiah

Etika dalam ranah penelitian lebih menunjuk pada prinsip-prinsip etis yang diterapkan dalam kegiatan penelitian. Peneliti dalam melaksanakan seluruh kegiatan penelitian harus memegang teguh sikap ilmiah (*scientific attitude*) serta menggunakan prinsip-prinsip etika penelitian. Meskipun intervensi yang dilakukan dalam penelitian tidak memiliki risiko yang dapat merugikan atau membahayakan subyek penelitian, namun peneliti perlu mempertimbangkan aspek sosioetika dan menjunjung tinggi harkat dan martabat kemanusiaan. Terdapat empat prinsip utama dari etika penelitian, yaitu:

1. Menghormati harkat dan martabat manusia (*respect for human dignity*).

Peneliti perlu mempertimbangkan hak-hak subyek untuk mendapatkan informasi yang terbuka berkaitan dengan jalannya penelitian serta memiliki kebebasan menentukan pilihan dan bebas dari paksaan untuk berpartisipasi dalam kegiatan penelitian (*autonomy*).

2. Menghormati privasi dan kerahasiaan subyek penelitian (*respect for privacy and confidentiality*)

Setiap manusia memiliki hak-hak dasar individu termasuk privasi dan kebebasan individu. Dalam aplikasinya, peneliti tidak boleh menampilkan informasi mengenai identitas baik nama maupun alamat asal subyek dalam kuesioner dan alat ukur apapun untuk menjaga anonimitas dan kerahasiaan identitas subyek. Peneliti dapat menggunakan koding (inisial atau *identification number*) sebagai pengganti identitas responden.

3. Keadilan dan inklusivitas (*respect for justice and inclusiveness*).

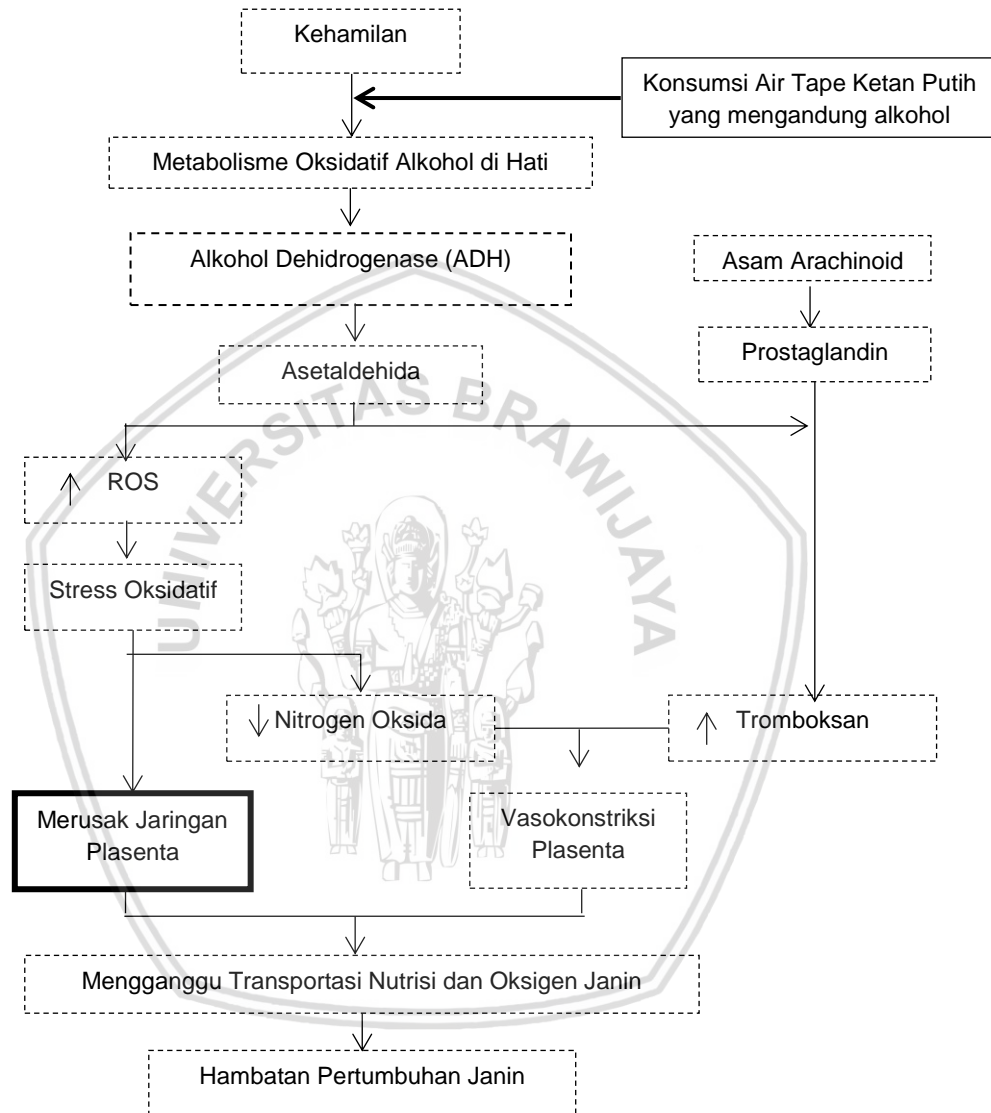
Prinsip keadilan memiliki konotasi keterbukaan dan adil. Untuk memenuhi prinsip keterbukaan, penelitian dilakukan secara jujur, hati-hati, profesional, berperikemanusiaan, dan memperhatikan faktor-faktor ketepatan, keseksamaan, kecermatan, intimitas, psikologis serta perasaan religius subyek penelitian. Prinsip keadilan menekankan sejauh mana kebijakan penelitian membagikan keuntungan dan beban secara merata atau menurut kebutuhan, kemampuan, kontribusi dan pilihan bebas masyarakat.

4. Memperhitungkan manfaat dan kerugian yang ditimbulkan (*balancing harms and benefits*)

Peneliti melaksanakan penelitian sesuai dengan prosedur penelitian guna mendapatkan hasil yang bermanfaat semaksimal mungkin bagi subyek penelitian dan dapat digeneralisasikan di tingkat populasi (*beneficence*). Peneliti meminimalisasi dampak yang merugikan bagi subyek (*nonmaleficence*). Apabila intervensi penelitian berpotensi mengakibatkan cedera atau stres tambahan maka subyek dikeluarkan dari kegiatan penelitian untuk mencegah terjadinya cedera

## BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

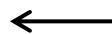
### 1.1 Kerangka Konsep Penelitian



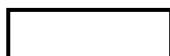
Keterangan:



: Variabel yang tidak diteliti



: Paparan



: Variabel yang diteliti



Saat kehamilan, asupan makanan dari ibu akan mempengaruhi kualitas tumbuh kembang janin. Tape ketan merupakan salah satu makanan mengandung alkohol. Alkohol di dalam tubuh akan dimetabolisme di hati melalui jalur oksidatif dengan mekanisme Alkohol Dehidrogenase (ADH) yang menghasilkan biotransformasi dalam produksi Asetaldehida, metabolit yang sangat beracun dan bersifat teratogenik. Metabolisme alkohol terlibat langsung dalam produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Ini membentuk lingkungan yang mendukung stres oksidatif. Spesies oksigen reaktif (ROS) adalah molekul kecil, sangat reaktif, mengandung oksigen yang dapat bereaksi dengan dan merusak molekul selular kompleks, terutama di hati. Metabolisme etanol secara langsung tidak hanya terlibat dalam produksi spesies oksigen reaktif (ROS), tetapi juga terkait dalam pembentukan lingkungan yang mendukung stres oksidatif seperti hipoksia, endotoksemia, dan pelepasan sitokin (Das, 2007). Sedangkan telah diketahui dari berbagai penelitian bahwa alkohol dapat dengan bebas melewati sawar plasenta, sehingga kerusakan sel akibat ROS dapat terjadi.

Dalam jaringan vili plasenta, paparan alkohol ditemukan menginduksi stres oksidatif, yang dapat menurunkan pelepasan NO. Penurunan NO dapat mempengaruhi regulasi aliran darah plasenta, yang dapat menyebabkan pembatasan pertumbuhan janin, yang sering dilaporkan pada janin yang terpapar alkohol (Ruf, 2004). NO disintesis di sinsitiotrofoblas, dan merupakan vasodilator plasenta yang kuat. Penurunan ketersediaan NO dapat mempengaruhi aliran darah yang diatur parakrin dalam dua cara. Pertama, bisa terjadi efek pada aliran dalam ruang intervili yang membentuk kompartemen maternal. Ketersediaan NO yang menurun di

sinsitiotrofoblas dapat menyebabkan penurunan pelepasan ke kompartemen darah plasenta ibu dan mengganggu aliran darah intervillus, mungkin melalui peningkatan platelet aggregation (Kay, 2000)

Selain itu, alkohol juga dapat meningkatkan jumlah tromboksan. Pelepasan Asam Arakidonat mengarah pada pembentukan tromboksan, prostaglandin, dan leukotrien. Tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) merupakan vasokonstriktor dan agregator platelet (Randall, 1995). Pengaturan aliran darah pada plasenta manusia tergantung pada fungsi parakrin. Tromboksan dan prostasiklin merupakan faktor regulasi penting dalam regulasi aliran darah. Fungsi penting dari NO endogen adalah untuk melemahkan vasokonstriksi yang diinduksi alkohol dalam plasenta, sehingga mikrosirkulasi dapat ditingkatkan dan kerusakan pada plasenta menurun. Jika jumlah tromboksan meningkat sedangkan NO menurun, maka dapat terjadi peningkatan tekanan perfusi yang dapat merusak transportasi oksigen dan menghasilkan asidosis janin (Ruf, 2004). Distorsi aliran darah ini dapat membahayakan pertukaran nutrisi antara maternal dan fetal serta mengurangi transport oksigen ke janin, sehingga dapat mengakibatkan hipoksia janin yang menyebabkan hambatan pertumbuhan janin (Kay, 2000).

## 1.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian air tape ketan putih dapat menurunkan berat dan merusak jaringan zona labirin plasenta pada tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* betina.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 1.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* yang membandingkan hasil yang didapat sesudah perlakuan (*post test*) dengan kelompok kontrol.

### 1.2 Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* usia 8-16 minggu dengan berat 130-180 gram yang diperoleh dari Institute Biosains Universitas Brawijaya.

Jumlah sampel dapat dihitung dengan rumus:  $(np - 1) - (p - 1) \geq p^2$  dengan  $n$ = jumlah sampel dan  $p$ = jumlah perlakuan. Berdasarkan rumus tersebut, maka diperoleh sampel sebesar:

$$(np - 1) - (p - 1) \geq p^2$$

$$(n4 - 1) - (4 - 1) \geq 4^2$$

$$(n4 - 1) - 3 \geq 16$$

$$4n \geq 20$$

$$n \geq 5$$

(Lockito, 1998)

Berdasarkan hasil dari rumus diatas, didapatkan jumlah sampel minimal sebanyak 5, sehingga dilakukan minimal 5 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok. Dalam penelitian ini digunakan 10 ekor tikus tiap kelompok untuk

menghindari kekurangan sampel karena kematian/*dropout*. Jadi jumlah keseluruhan sampel adalah  $4 \times 10 = 40$  ekor tikus.

Kriteria inklusi sampel tikus:

- Tikus betina spesies *Rattus norvegicus*
- Kondisi sehat yang ditandai dengan pergerakan aktif, mata yang jernih dan bulu yang tebal berwarna putih.
- Usia 8-16 minggu
- Berat 130-180 gram.

Kriteria eksklusi sampel tikus:

- Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

### **1.3 Variabel Penelitian**

#### **1.3.1 Variabel bebas**

Dosis tape ketan putih.

#### **1.3.2 Variabel terikat**

Berat dan histologi plasenta tikus.

### **1.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama satu bulan pada bulan Agustus 2017 sampai September 2017.

## **1.5 Bahan dan Alat Penelitian**

### **1.5.1 Bahan Penelitian**

#### **1.5.1.1 Bahan pemeliharaan hewan coba**

Bahan pemeliharaan hewan coba berupa makanan dan minuman hewan coba. Makanan hewan coba adalah pellet khusus untuk hewan peliharaan yang diberikan sebanyak 40 gram/ekor/hari. Pemberian makan dilakukan pada sore hari pukul 16.00. Hewan coba diberi minum *ad libitum* dan pergantian air minum dilakukan setiap hari (Widiartini, 2013).

#### **1.5.1.2 Bahan perlakuan hewan coba**

Berupa air tape ketan diperoleh dari perasan tape ketan putih pada fermentasi hari ke-3.

### **1.5.2 Alat Penelitian**

Alat penimbangan berat badan hewan coba menggunakan timbangan digital. Alat pengukuran kadar alkohol pada tape ketan putih berupa Gas Chromatography Flame Ionization Detector (GC-FID) agilent 6890 (Suaniti, 2015). Alat pemberian tape ketan putih pada hewan coba menggunakan sonde dan spuit 3ml. Alat pembedahan dan pengambilan plasenta berupakapas, scalpel, gunting, pinset, jarum pentul, alas kayu, dan sarung tangan. Alat pengukuran berat plasenta tikus menggunakan timbangan digital. Alat pengamatan histologi plasenta tikus berupa mikroskop cahaya.

## 1.6 Definisi Operasional

| No | Variable           | Definisi   | Skala | Satuan               |
|----|--------------------|--|-------|----------------------|
| 1  | Tape ketan putih   | Tape ketan putih adalah beras ketan putih yang difermentasikan menggunakan ragi tape selama 3 hari. Bagian yang digunakan untuk paparan terhadap tikus adalah air tape ketan putih.                                    | Ratio | Dosis (ml/kgBB/hari) |
| 2  | Kadar alkohol      | Kadar alkohol dalam tape ketan putih pada fermentasi hari ke 3   | Ratio | Persen               |
| 3  | Tikus bunting      | Tikus bunting adalah tikus betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan dan memperlihatkan tanda-tanda kebuntingan, yaitu terdapat <i>vaginal plaque</i> dan penambahan berat badan.                               | Ratio | Ekor                 |
| 4  | Berat plasenta     | Berat plasenta tikus yang diukur dari induk tikus setelah paparan dari hari pertama sampai hari ke 19 pada kelompok kontrol dan perlakuan.   | Ratio | Gram                 |
| 5  | Histologi plasenta | Histologi plasenta induk tikus yang dilihat menggunakan mikroskop setelah paparan dari hari pertama sampai hari ke 19 pada kelompok kontrol dan perlakuan. Objek yang diamati adalah zona labirin pada plasenta tikus. | -     | -                    |



## 1.7 Prosedur Penelitian

### 1.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Adaptasi hewan coba dilakukan selama 7 hari di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Selama proses adaptasi, semua kelompok tikus diberikan pakan pellet dan air *ad libitum*.

### 1.7.2 Pengawinan Hewan Coba

Proses pengawinan dilakukan berdasarkan fenomena biologis berupa *Lee Boot effect*, *Pheromone effect*, dan *Whitten effect*. Fenomena biologis diterapkan selama adaptasi. Pertama menerapkan *Lee Booth effect*, yaitu beberapa tikus putih betina ditempatkan dalam satu kandang. Kedua, menerapkan *Pheromone effect*, yaitu memberikan paparan bau-bauan yang berasal dari tikus putih jantan dengan memberikan sekam dari kandang tikus putih jantan ke kandang tikus betina. Ketiga, terjadi *Whitten effect* yaitu 72 jam setelah *Pheromone effect*, tikus betina mengalami fase estrus (Fitri, 2015). Pengawinan dilakukan dengan mencampurkan tikus jantan dan betina dengan perbandingan 1:1 dalam satu kandang. Tikus jantan dimasukkan ke dalam kandang tikus betina pada pukul 16.00 WIB dan dipisahkan lagi besok paginya pukul 06.00 WIB. Jika keesokan harinya ditemukan *vaginal plaque*, maka hari tersebut diduga sebagai hari pertama kebuntingan. Selain *vaginal plaque*, untuk menentukan kehamilan bisa dilakukan dengan melakukan palpasi fetus tikus kira-kira pada hari ke-10, akan tetapi palpasi lebih akurat jika dilakukan pada hari ke-12. Sedangkan untuk pembesaran perut terlihat pada hari ke-13 (Suckow, 2006). Tikus yang telah bunting ditandai dan dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan yang

sudah ditentukan, sedangkan tikus yang belum bunting dicampur kembali dengan tikus jantan.

### 1.7.3 Pembagian kelompok hewan coba

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara randomisasi yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol: yang tidak diberikan perlakuan.
2. Kelompok perlakuan:
  - a. Perlakuan 1 : kelompok tikus bunting yang diberikan air tape ketan putih pada fermentasi hari ke 3 dengan dosis 20 ml/kgBB/hari.
  - b. Perlakuan 2 : kelompok tikus bunting yang diberikan air tape ketan putih pada fermentasi hari ke 3 dengan dosis 30 ml/kgBB/hari.
  - c. Perlakuan 3 : kelompok tikus bunting yang diberikan air tape ketan putih pada fermentasi hari ke 3 dengan dosis 40 ml/kgBB/hari.

### 1.7.4 Prosedur Pembuatan Tape Ketan

Proses pembuatan tape ketan yaitu beras ketan dicuci lalu direndam dalam air selama kira-kira 1 jam. Setelah itu dimasak sampai matang dan lengket, lalu didinginkan pada suhu ruangan. Ragi ditaburkan diatas beras ketan dan dicampur hingga rata selanjutnya ditempatkan di dalam wadah dan ditutup dengan daun pisang. Dalam 2-3 hari pada suhu ruangan, beras ketan yang lengket akan menjadi lembut/empuk, berair dan manis atau asam, dan beraroma alkohol serta siap untuk dikonsumsi (Nuraida, 2015). Air tape ketan diperoleh dari perasan tape ketan putih

pada fermentasi hari ke-3 secara manual menggunakan tangan, kemudian disimpan di dalam *freezer*.

#### 1.7.5 Prosedur Pengukuran Kadar Alkohol Pada Tape Ketan Putih

Pengukuran kadar alkohol pada air tape ketan putih dilakukan di laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan cara mengencerkan 9,50 ml air Tape dengan akuades sampai 100 ml, lalu ditambahkan 0,50 mL butanol. Selanjutnya larutan ini diinjeksikan sebanyak 1,00  $\mu$ L ke dalam alat GC-FID (Suaniti, 2015). GC-FID (*Gas Chromatography Flame Ionization Detector*) merupakan teknik analitis sangat umum yang digunakan secara luas pada pasar petrokimia, farmasi, dan gas alam (Eiceman, 2000). FID biasanya menggunakan api Hidrogen/udara yang dilewati sampel untuk mengoksidasi molekul organik dan menghasilkan partikel bermuatan listrik (ion). Ion dikumpulkan dan menghasilkan sinyal listrik yang kemudian diukur.



Gambar 4.1 Alat GC-FID (*Gas Chromatography Flame Ionization Detector*) (Eiceman, 2000)

#### 1.7.6 Penentuan Dosis Tape Ketan Putih

Penentuan dosis tape ketan putih merujuk pada jurnal Oyedeji et al yang berjudul *Effect of Alcohol Consumption on Haematological and Reproductive Parameters in Female Albino Rats*. Penelitian tersebut menggunakan alkohol 20%

dengan dosis 10 mL/KgBB pada tikus betina tidak hamil selama 30 hari didapatkan bahwa tidak terjadi penurunan yang signifikan pada packed cell volume (PCV), hemoglobin, platelet, dan total white blood cell (TWBC) tetapi terjadi penurunan yang signifikan pada sel darah merah (eritrosit) dan limfosit. Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan dosis berurutan yaitu 20 mL/KgBB untuk (P1), 30 mL/KgBB untuk (P2), dan 40 mL/KgBB untuk (P3).

#### **1.7.7 Prosedur Pemberian Tape Ketan Putih pada Hewan coba**

Pemberian tape ketan putih dimulai hari pertama kebuntingan (hari saat muncul vaginal plague) sampai hari ke 19 kebuntingan. Air tape ketan putih dimasukkan ke dalam spuit 3ml yang telah dipasang sonde, kemudian sonde dimasukkan peroral, dengan masing-masing dosis 20 mg, 30 mg, dan 40 mg, yang dibagi menjadi 3x perlakuan. Pemberian dilakukan meyesuaikan kapasitas lambung tikus.

#### **1.7.8 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba**

Hewan coba diadaptasikan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 7 hari pada temperatur ruangan konstan. Tikus ditempatkan didalam 4 kandang yang terbuat dari box plastik berukuran panjang 40 cm, lebar 15 cm dan tinggi 10 cm, masing-masing kandang terdiri dari 6 ekor tikus. Kandang ditutup kawat dengan luas 1 cm dan diberi alas sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Tikus diberi makanan pellet dan minum ad libitum (Widiartini, 2013).

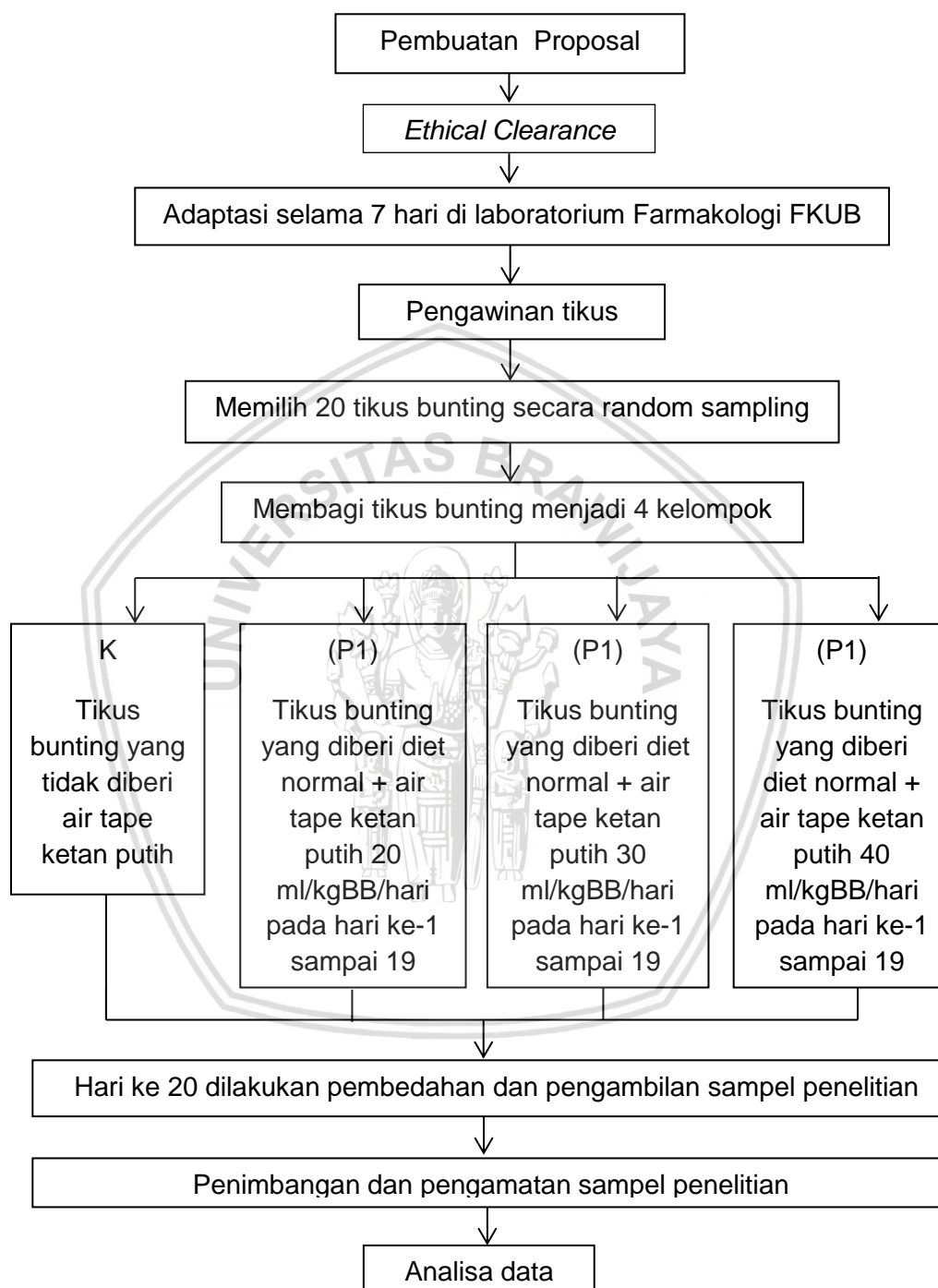
#### 1.7.9 Prosedur Pembedahan Dan Pengukuran Berat Plasenta Hewan Coba

Setelah kehamilan mencapai hari ke-20, tikus-tikus dari setiap kelompok dikorbankan dengan cara disuntikkan ketamin 0,1-0,2 mL ke paha tikus secara *intramuscular*, kemudian ditunggu sampai tikus lemas tetapi jantung masih berdetak. Setelah itu, dilakukan pembedahan. Kemudian rahim dibuka dan janin diangkat. Plasenta ditimbang dan segera dimasukkan ke dalam cairan formalin 10%.

#### 1.7.10 Pengamatan Histopatologi Plasenta Tikus

Jaringan dipotong dan diatur dalam *tissue cassettes*, didehidrasi secara otomatis dengan mesin dehidrasi, dikeringkan dengan mesin *vaccum*, dan diblok dengan cairan parafin, selanjutnya blok tersebut dipotong 3 – 5  $\mu$ m dengan mesin mikrotom dan potongan tersebut dilekatkan pada kaca obyek. Setelah itu kaca obyek diwarnai secara manual dengan hematoksin dan eosin (Muntiha, 2001). Kemudian preparat diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 20x.

### 1.7.11 Alur Penelitian





### 1.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 12,0 for Windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ( $p < 0,05$ ). Berikut langkah uji data, yaitu:

1. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung pada normal tidaknya distribusi data. Apabila data terdistribusi normal, maka digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran data. Sedangkan apabila data tidak berdistribusi normal digunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal maka menggunakan uji parametrik. Sedangkan jika distribusi data tidak normal menggunakan uji non parametrik.
2. Uji homogenitas varian: jika hasil data menunjukkan kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova terpenuhi.
3. Uji *one way Anova*: bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan
4. *Post Hoc Test*: bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji Anova. *Post Hoc Test* yang digunakan adalah uji Turkey HSD dengan signifikansi 95% ( $p < 0,05$ ).

5. Uji korelasi Pearson: bertujuan untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda secara signifikan yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil uji *Post Hoc Test* Turket HSD



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 1.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus bunting yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol, perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3). Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh dari alkohol yang terkandung dalam air tape ketan putih terhadap berat dan histologi plasenta tikus. Kandungan alkohol dalam air tape ketan putih yang diukur menggunakan alat GC-FID adalah sebesar 2.79% per 10ml. Rata rata berat plasenta pada tikus percobaan terdapat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Rata Rata Berat Plasenta Tikus

| Kelompok | Rata-rata berat plasenta (gram) |
|----------|---------------------------------|
| Kontrol  | 0.51                            |
| P1       | 0.49                            |
| P2       | 0.47                            |
| P3       | 0.44                            |

Keterangan :

Kontrol : tikus bunting tanpa pemberian air tape ketan putih

P1 : tikus bunting dengan pemberian air tape ketan putih dengan dosis 20ml/kgBB/hari

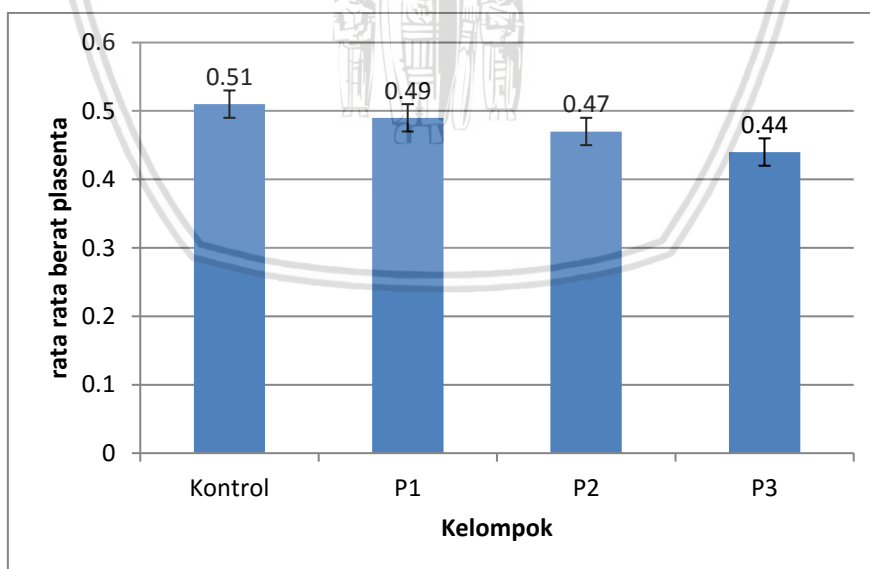
P2 : tikus bunting dengan pemberian air tape ketan putih dengan dosis 30ml/kgBB/hari

P3 : tikus bunting dengan pemberian air tape ketan putih dengan dosis 40ml/kgBB/hari

Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui berat rata rata plasenta pada kelompok kontrol sebesar 0.51 gram. Rata rata berat plasenta pada kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) berturut turut adalah sebesar

0.49 gram, 0.47 gram, dan 0.44 gram. Terdapat penurunan rata rata berat plasenta pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Data yang didapat dari hasil penimbangan plasenta tikus dianalisis menggunakan uji One Way Anova. Untuk melakukan uji One Way Anova, maka dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas didapatkan nilai  $p = 0,542$  ( $p > 0,05$ ) dan uji homogenitas didapatkan nilai  $p = 0,677$  ( $p > 0,05$ ) maka dapat disimpulkan bahwa syarat uji ANOVA terpenuhi sehingga bisa dilakukan uji *One way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* diperoleh  $p = 0,178$  ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian air tape ketan putih dengan dosis 20ml/kgBB, 30ml/kgBB dan 40ml/kgBB tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan berat plasenta. Berikut merupakan grafik rata-rata berat plasenta pada tiap kelompok:



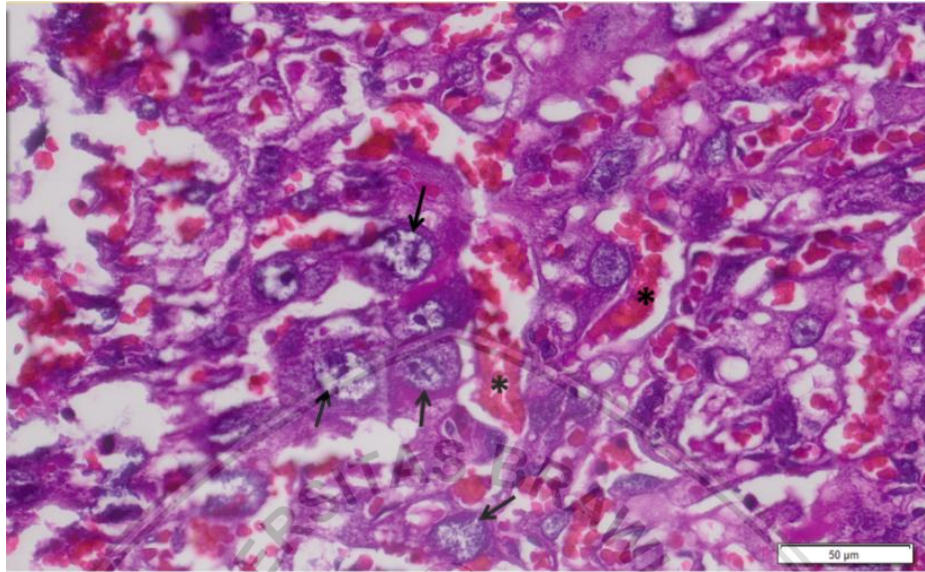
Gambar 5.1 Grafik Rata Rata Berat Plasenta Pada Kelompok Kontrol, P1,P2, dan P3.

Analisa *Post hoc test* dengan menggunakan Uji Tukey dilakukan untuk mengetahui perbedaan signifikan yang terjadi antar kelompok. Kelompok yang menjadi pembandingnya adalah kelompok kontrol. Berdasarkan hasil uji *TukeyHSD* terhadap rata-rata berat plasenta tikus dapat disimpulkan bahwa tidak ada kelompok perlakuan yang berbeda secara bermakna terhadap kelompok kontrol dengan nilai  $P_1$  sebesar  $p = 0,893$  ( $p > 0,05$ ),  $P_2$  sebesar  $p = 0,510$  ( $p > 0,05$ ), dan  $P_3$  sebesar  $p = 0,153$  ( $p > 0,05$ ).

Berdasarkan uji korelasi didapatkan nilai korelasi ( $r$ ) yaitu  $-0,496$  ( $p > 0,05$ ) maka menunjukkan korelasi yang cukup kuat dengan nilai korelasi ( $r$ ) negatif (-) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberi semakin rendah berat plasenta tikus. Selanjutnya dilakukan uji regresi untuk mengetahui seberapa besar pengaruh air tape ketan putih terhadap berat plasenta tikus. Berdasarkan uji regresi diperoleh nilai *R square* 0,246 sehingga apabila dihitung  $R\ square \times 100 = 24,6\%$  yang artinya pengaruh air tape ketan putih menurunkan berat plasenta tikus yaitu sebesar 24,6%.

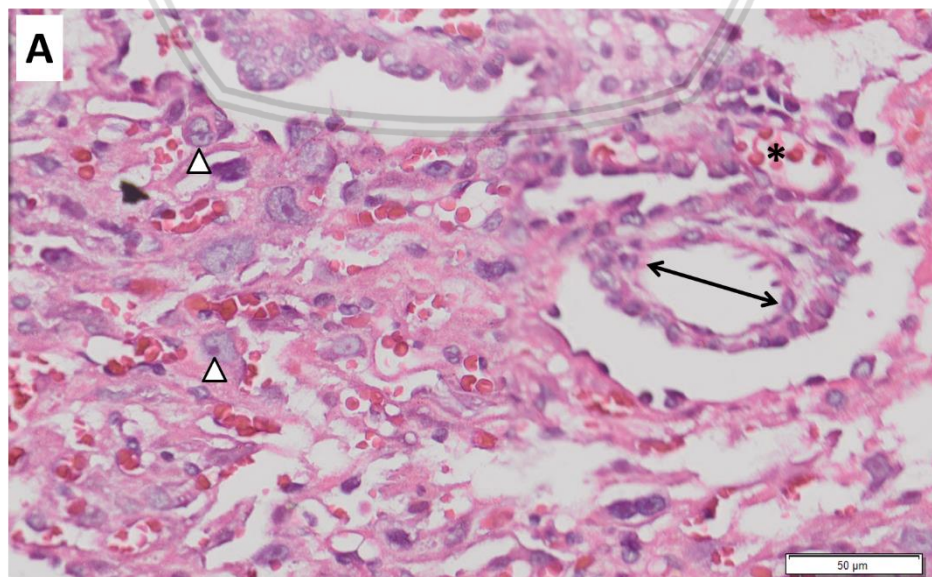
Hasil pengamatan histologi plasenta pada kelompok kontrol dapat dilihat pada gambar 5.2 dan histopatologi pada kelompok perlakuan  $P_1$ ,  $P_2$ , dan  $P_3$  pada gambar 5.3. Ditemukan adanya atrofi pada sel trofoblas zona labirin dan vasodilatasi pembuluh darah pada kelompok perlakuan. Pada perbandingan tebal zona labirin kelompok kontrol dan perlakuan (gambar), terlihat ketebalan pada zona kelompok perlakuan terutama  $P_3$  mengalami penipisan dibandingkan dengan kelompok kontrol.



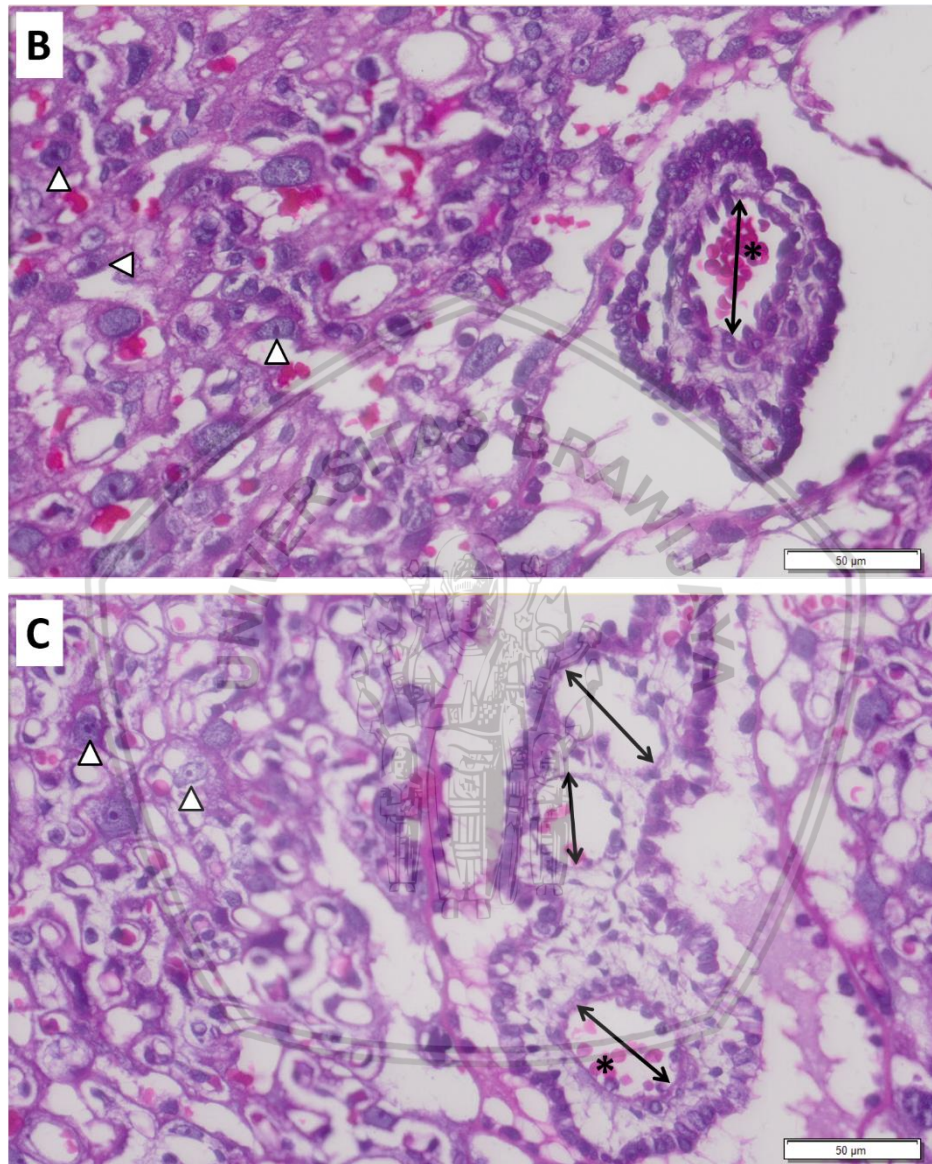


Gambar 5.2 Histologi Zona Labirin Plasenta Tikus Pada Kelompok Kontrol

Keterangan gambar: Sel trofoblas pada zona labirin tanpa paparan alkohol (tanda panah) dan sel-sel darah ibu mengisi ruang-ruang yang dibatasi oleh trofoblast labirin arteriks) pada perbesaran 20x. Zona labirin merupakan tempat yang sangat terovaskularisasi oleh darah ibu dan janin. Zona labirin mengandung sinusoid maternal dan septum trofoblas, yang tersusun dari *trilamin trophoblastic epithelium* dan kapiler janin. Sinusoid ibu penuh dengan aliran darah ibu antara septa trophoblastik tanpa endotelium. Epitelium trofoblas, yang bersentuhan langsung dengan darah ibu, disebut sebagai sitotrofoblas. Sitotrofoblas dapat dengan mudah dilihat oleh inti bulat yang besar dengan nukleolus menonjol.

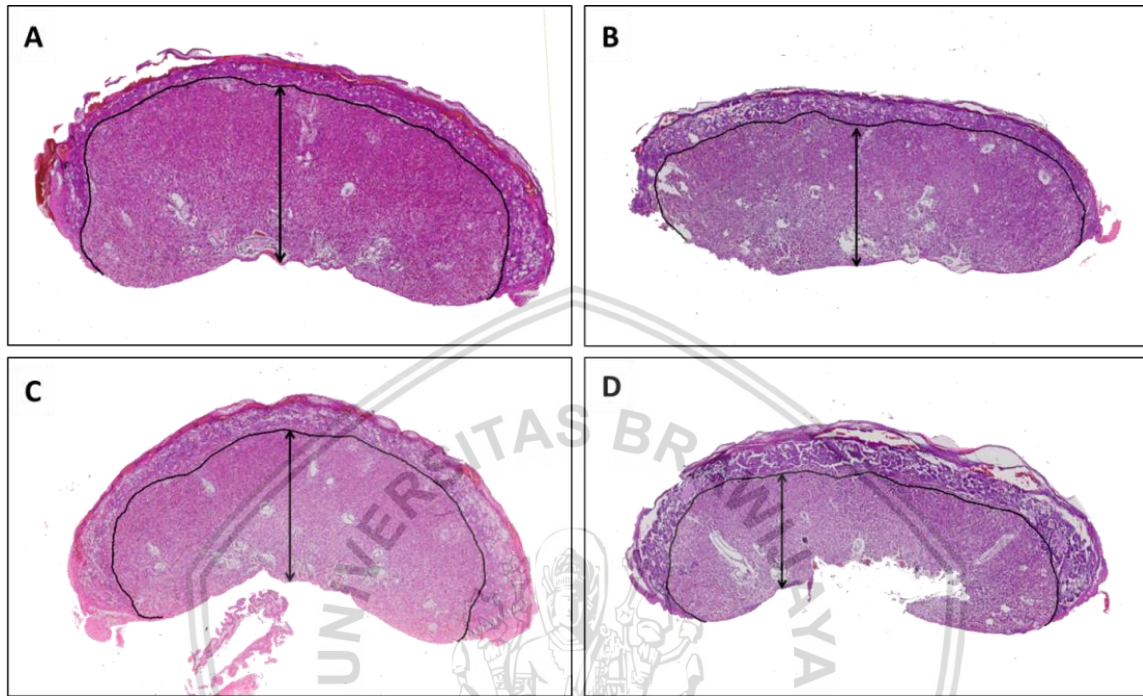






Gambar 5.3 Histopatologi Zona Labirin Plasenta Tikus Pada Kelompok Perlakuan P1 (A), P2 (B), dan P3 (C).

Keterangan gambar: Sel trofoblas pada zona labirin dengan paparan alkohol. Terlihat gambaran zona tersebut tidak berbeda secara signifikan. Terdapat atrofi (panah putih) dan vasodilatasi pembuluh darah pada tiap kelompok perlakuan. Padakelompok P3, sel darah janin terlihat berkurang dibandingkan dengan kelompok lainnya. Dengan perbesaran 20x.



Gambar 5.4 Zona Labirin Pada Kelompok Kontrol (A), P1 (B), P2 (C), dan P3 (D).

Keterangan gambar: Zona Labirin (dibatasi dengan garis) dengan ketebalan masing masing kelompok secara berurutan adalah  $\pm 2.4$  mm,  $\pm 2.1$  mm,  $\pm 2.2$  mm, dan  $\pm 1.8$  mm..



Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* bunting sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan, yaitu P1, P2, dan P3. Kelompok perlakuan diberi air tape ketan putih pada perkiraan hari pertama kebuntingan sampai dengan hari ke 19. Pada hari ke 20 dilakukan pembedahan dan penimbangan berat plasenta, kemudian plasenta tikus dipilih sebanyak 2 buah secara acak pada tiap tikus untuk diamati histologinya.

Air tape ketan putih didapatkan dengan cara memeras tape ketan putih yang sudah difermentasikan selama 3 hari. Kandungan alkohol yang terdapat pada air tape ketan putih tersebut adalah sebesar 2,79% per 10ml. Menurut peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia nomor 14 tahun 2016 terdapat 3 golongan minuman beralkohol yang didasarkan atas kandungan alkohol, yaitu: (a) Golongan A : sampai dengan 5%-7%, (b) Golongan B : lebih dari 5 – 20%; dan (c) Golongan C : lebih dari 20 – 55%. Maka air tape ketan setara dengan minuman beralkohol golongan A dengan kadar yang lebih rendah.

Hasil penimbangan berat plasenta menunjukkan bahwa rata rata berat plasenta pada kelompok kontrol adalah 0,51 gram dan pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 berturut turut adalah 0.49 gram, 0.47 gram, dan 0.44 gram. Terjadi penurunan rata-rata berat plasenta tikus bunting pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun secara statistik tidak signifikan. Hal tersebut berbanding terbalik dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Akay, dkk pada tahun 2005 yang menyebutkan bahwa terjadi peningkatan rata rata berat plasenta

yang telah terpapar alkohol sebanyak 1 dan 5 g/kg/hari selama kehamilan. Perbedaan dosis serta kandungan alkohol diduga menjadi penyebab perbedaan hasil rata-rata berat plasenta tikus.

Hasil pengamatan histopatologi plasenta tikus menunjukkan gambaran zona labirin, yang merupakan bagian utama dari plasenta tikus, mengalami penipisan pada kelompok perlakuan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada perbesaran 20x ditemukan atrofi pada sel trofoblas dan vasodilatasi pembuluh darah zona labirin plasenta pada kelompok perlakuan. Atrofi adalah penyusutan ukuran sel oleh hilangnya substansi sel. Ketika jumlah sel yang cukup banyak terlibat, seluruh jaringan atau organ berkurang dalam ukuran, menjadi atrofi. Harus ditekankan bahwa meskipun sel atrofi mungkin telah berkurang fungsinya, mereka tidak mati. Penyebab atrofi termasuk penurunan beban kerja, kehilangan persarafan, berkurangnya suplai darah, nutrisi yang tidak adekuat, hilangnya stimulasi endokrin, dan penuaan (Kumar, 2018). Atrofi pada sel trofoblas tersebut diduga akibat dari paparan alkohol yang telah diketahui dapat mengakibatkan stress oksidatif. Hal ini didukung dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gundongan, dkk yang menyatakan bahwa terjadi perubahan morfologi pada zona labirin plasenta tikus yang terkena paparan alkohol. Penelitian tersebut juga menyatakan bahwa zona labirin merupakan zona yang paling sensitive terhadap paparan alkohol pada plasenta (Gundongan, 2015).

Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa alkohol yang terkandung dalam air tape ketan putih dapat menyebabkan penurunan berat plasenta yang dikaitkan dengan penipisan pada zona labirin dan atrofi sel trofoblas yang terjadi pada zona



tersebut. Zona labirin merupakan tempat yang sangat ter-vaskularisasi oleh darah ibu dan janin, sehingga merupakan tempat terjadinya sebagian besar pertukaran zat-zat yang sangat dibutuhkan untuk perkembangan janin (Furukawa, 2011). Apabila terjadi kerusakan pada zona tersebut maka akan mempengaruhi sirkulasi ibu dan janin.

Plasenta memiliki peran penting dalam menunjang kehidupan janin. Alkohol dapat mempengaruhi plasenta secara langsung karena alkohol dapat melewati sawar plasenta secara bebas (Reeder, 2013). Penurunan rata-rata berat plasenta dan perubahan pada zona labirin dapat berakibat buruk pada perfusi pada plasenta dimana kehidupan janin sangat bergantung pada aliran darah ibu. Alkohol menginduksi vasokonstriksi yang meningkatkan resistensi vaskular plasenta-janin dan tekanan perfusi di plasenta. Peningkatan tekanan perfusi dapat mengganggu transportasi oksigen dan menghasilkan asidosis janin (Burd, 2007).

Hasil dari penelitian ini juga mengungkapkan bahwa mengonsumsi air tape ketan putih yang mengandung alkohol sebesar 2,79% dengan dosis 40 ml/kgBB/hari pada tikus bunting dapat menimbulkan efek yang membahayakan pada plasenta tikus. Jika dikonversikan ke dosis untuk manusia maka menjadi 6,4 ml/kgBB/hari. Berbagai jenis bir, anggur, atau minuman keras lain bisa memiliki jumlah konten alkohol yang sangat berbeda. Jumlah cairan tidak selalu sesuai dengan seberapa banyak alkohol sebenarnya dalam minuman. Maka penting untuk mengetahui berapa banyak alkohol yang diminum, yaitu dengan mengetahui *Standard drink*. Ukuran *Standard drink* tiap negara berbeda, namun Indonesia belum mempunyai ukuran *Standard drink* sendiri. Jika merujuk pada *The Alcohol Advisory Council of New*



*Zealand's* (ALAC), *Standard drink* mengandung 10 gram/volume alkohol murni. Untuk mengetahui jumlah *standard drink* dalam sebuah minuman dapat menggunakan rumus menurut ALAC tahun 2012:

Jumlah minuman dalam liter (Vol) x % volume alkohol (%) x Densitas etanol pada suhu kamar (0,789).

Maka jika meminum air tape ketan putih dengan kandungan alkohol 2.79% sebanyak 448 ml/70kgBB akan setara dengan 1 *standard drink*. *The Alcohol Advisory Council of New Zealand's* (ALAC) dirancang untuk membantu membuat informed choice dan membantu menjaga risiko kecelakaan terkait alkohol, cedera, penyakit dan kematian rendah. Risiko rendah, bagaimanapun bukan berarti tidak ada risiko. Bahkan ketika minum dalam batas risiko rendah, berbagai faktor dapat memengaruhi tingkat risiko, termasuk minum terlalu cepat, jenis tubuh atau susunan genetik, jenis kelamin, masalah kesehatan yang ada, dan usia. Untuk mengurangi risiko kesehatan jangka panjang dengan minum tidak lebih dari 2 *standard drink* sehari untuk wanita dan tidak lebih dari 10 *standard drink* seminggu Dan setidaknya dua hari bebas alkohol setiap minggu. Saran untuk wanita hamil atau mereka yang berencana untuk hamil adalah tidak untuk mengonsumsi alkohol karena tidak ada tingkat penggunaan alkohol yang aman pada setiap tahap kehamilan.

Efek paparan alkohol dalam rahim tergantung dari dosis, waktu paparan, gizi ibu, dan faktor genetik. Efek teratogenik minum alkohol dalam jumlah kecil hingga sedang masih diperdebatkan saat ini, karena ada beberapa faktor selain dosis

konsumsi yang dapat mempengaruhi hasil, seperti waktu dan pola paparan. Studi tunggal menunjukkan hasil yang beragam dan kontradiktif (Skagerström, 2015).

Sebuah penelitian dilakukan untuk meninjau secara sistematis dan melakukan meta-analisis pada efek paparan alkohol ibu pada risiko berat badan lahir rendah (BBLR), kelahiran prematur dan *small-size-for-gestational age* (SGA). Hasil dari penelitian tersebut mengungkapkan bahwa hubungan dosis-respon keseluruhan untuk BBLR dan SGA tidak berpengaruh sampai 10 g/hari (rata-rata sekitar 1 *Standard drink*/hari) dan kelahiran prematur tidak berpengaruh sampai 18 g/hari (rata-rata 1,5 *Standard drink*/hari) konsumsi alkohol murni. Tinjauan sistematis dan meta-analisis ini menunjukkan hubungan non-linear antara konsumsi alkohol ibu dan risiko BBLR, kelahiran premature, dan SGA. Risiko BBLR dan SGA dengan konsumsi alkohol meningkat secara linear pada ibu yang mengkonsumsi rata-rata 1 *Standard drink* atau lebih per hari. Demikian pula, ibu yang mengonsumsi lebih dari 3 minuman beralkohol, risiko melahirkan anak prematur meningkat sebesar 23% (Patra, 2011).

Terdapat banyak kesulitan dan keterbatasan dalam desain penelitian yang dapat menjelaskan beberapa hasil yang bertentangan dalam review, meta-analisis dan studi tunggal yang menyelidiki efek dari paparan alkohol dosis rendah. Dosis, pola, dan waktu paparan serta pembaur potensial sulit diukur secara akurat, yang menjelaskan mengapa risiko efek fetal sulit ditentukan. Meskipun tidak ada bukti yang kuat mengenai bahaya dengan tingkat paparan alkohol yang rendah, pada tingkat moderat (70 gram alkohol per minggu) telah ditemukan dapat meningkatkan risiko masalah perilaku pada anak-anak (O'Leary, 2012).

Karena tidak ada tingkat aman yang diketahui untuk menggunakan alkohol pada setiap tahap kehamilan, disarankan bahwa setiap wanita yang hamil atau ingin hamil sebaiknya tidak minum alkohol. Alkohol juga sebaiknya dihindari saat menyusui, karena alkohol dapat melewati ASI untuk bayi dan mempengaruhi perkembangan (Gunsekara, 2014). Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan berapa dosis tape ketan putih yang dapat membahayakan jika dikonsumsi manusia.

Penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu:

1. Penggunaan air tape ketan putih yang dapat menimbulkan bias dikarenakan zat lain dari tape ketan putih yang terkandung di dalam ampas terbang
2. Pengamatan histologi plasenta tikus yang merupakan penilaian subjektif dari peneliti sehingga tidak dapat digunakan sebagai nilai yang akurat untuk mengetahui efek pada jaringan.
3. Perhitungan kadar alkohol pada air tape ketan putih yang hanya dilakukan diawal dikarenakan biaya peneliti yang terbatas sehingga kadar alkohol tidak termonitor dengan baik.
4. Penelitian yang hanya menggunakan 3 dosis dengan *range* yang tidak terlalu jauh sehingga belum tercapainya penurunan berat plasenta berbeda signifikan.
5. Stress pada hewan coba yang dapat terjadi akibat pengawinan yang dilakukan berulang-ulang sehingga dapat menjadi *confounding factor* yang tidak dapat dikendalikan oleh peneliti.



## PENUTUP

### 1.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Pemberian air tape ketan putih yang mengandung alkohol tidak berpengaruh terhadap berat plasenta tikus.
2. Kadar alkohol pada air tape ketan putih adalah sebesar 2.79% per 10ml.
3. Terdapat penyempitan pada zona labirin terutama terlihat pada kelompok dengan dosis 40mg/kgBB/hari dan berkurangnya pembuluh darah pada zona tersebut.
4. Dosis yang paling berpengaruh terhadap perubahan berat plasenta dan histologi pada tikus adalah pada kelompok P3 yaitu sebesar 40mg/kgBB/hari.
5. Rata-rata berat plasenta pada kelompok yang diberi air tape ketan putih P1, P2, dan P3 berturut turut adalah 0.49 gram, 0.47 gram, dan 0.44 gram.
6. Penurunan rata-rata berat plasenta yang paling berpengaruh yaitu pada kelompok P3 dengan dosis 40ml/kgBB.

### 1.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba dengan pemberian kadar dan dosis air tape ketan putih yang lebih bervariasi untuk mengetahui kadar dan dosis air tape ketan putih yang mampu menurunkan berat plasenta tikus secara signifikan.

2. Perlu dilakukan pengecekan kadar alkohol perhari untuk mengetahui peningkatan kadar alkohol yang terjadi pada tape ketan putih selama proses fermentasi alami.
3. Perlu dilakukan penilaian kerusakan sel pada plasenta yang lebih akurat.





**DAFTAR PUSTAKA**

- Ain, R., Konno, T., Canham, L. N., Soares, M. J. Phenotypic Analysis of the Rat Placenta . *Placenta and Trophoblast: Methods and Protocols*, 2006, Vol. 1
- Akay, M.T., Evrim A.K. The Effects OfAlkohol On Rat Placenta. *Cell Biochemistry And Function*. 2004. Department of Biology, Faculty of Science, Hacettepe University : Turkiye.
- Arsyat, N.M., 2001. *Kamus Kimia (Arti Dan Penjelasan Istilah)*.Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition*. American Veterinary Medical Association, 2013.
- Boga, Y. 2008. *Kue-Kue Indonesia*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Burd, L., Roberts, D., Olson , M., Odendaal, H. Ethanol and the placenta: A review. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 2007; 20(5): 361–375
- Croy, B.A., Yamada, A.T., Demayo, F.J., Adamson, S.L. 2014. *The Guide To Investigation Of Mouse Pregnancy*. Elsevier Academic Press.
- Das, S.K., Vasudevan , D.M. Minireview: Alcohol-Induced Oxidative Stress. *Life Sciences*. 2007, vol. 81 : 177–187
- Donnelly, L., Campling, G. Functions Of The Placenta. *Anaesthesia And Intensive Care Medicine*, 2016, 17:7.
- Eiceman GA. 2000. *Instrumentation of Gas Chromatography*, John Wiley & Sons Ltd. Chichester.
- Furukawa, S., Hayashi, S., Usuda, K., Abe, M., Hagio, S., Ogawa, I. Toxicological Pathology in the Rat Placenta. *Journal Toxicol Pathol* 2011; 24: 95–111
- Fitri, L. E., [Sardjono, T.W](#), [Rahmah, Z](#), [Siswanto, B](#), [Handono, K](#), [Dachlan, Y.P](#) Low Fetal Weight is Directly Caused by Sequestration of Parasites and Indirectly by IL-17 and IL-10 Imbalance in the Placenta of Pregnant Mice with Malaria. [Korean Journal of Parasitology](#). 2015, 53(2): 189–196

- Gunasekara, F. I. 2014. *Alcohol – The Body And Health Effects: A Brief Overview*. Health Promotion Agency. <https://www.hpa.org.nz/sites/default/files/documents/HealthEffects.pdf>
- Gundogan, f., Gilligan, j., Qi, w., Chen, e., Naram, r., Monte, s.m. Dose Effect Of Gestational Ethanol Exposure On Placentation And Fetal Growth. *Placenta*, 2015, 36: 523-530
- Haryadi. 2013. *Analisa Kadar Alkohol Hasil Fermentasi Ketan Dengan Metode Kromatografi Gas Dan Uji Aktivitas Saccharomyces cereviceae Secara Mikroskopis*. Tesis. Tidak Diterbitkan, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Semarang. [http://eprints.undip.ac.id/44393/3/BAB\\_II.pdf](http://eprints.undip.ac.id/44393/3/BAB_II.pdf)
- Heffner, L.J., Danny J.S. *At A Glance: Sistem Reproduksi*. Terjemahan. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Heller, M., Burd, L. Review of Ethanol Dispersion, Distribution, and Elimination from the Fetal Compartment. *Birth Defects Research*. 2014
- [Jamie L.](#), Matthias, C.S., Victoria, H.R., Xiaojie, W., Katherine, S.L., Kathleen, A., Antonio E.F., *et.al*. First Trimester Alcohol Exposure Alters Placental Perfusion And Fetal Oxygen Availability Affecting Fetal Growth And Development In A Non-Human Primate Model. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2016, 216 (3): 302
- Johnson, M. 2012. *Laboratory Mice And Rats*. Synatom Research, United States <https://www.labome.com/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>
- Kay, H.H., Grindle, K.M., Magness, R.R. Ethanol Exposure Induces Oxidative Stress And Impairs Nitric Oxide Availability In The Human Placental Villi: A Possible Mechanism Of Toxicity. *American Journal Obstetric And Gynecology*. 2000, Vol.182 : 3
- Krinke, G.J., 2000. *The Laboratory Rat*. Academic Press, London
- Kumar, V., Abbas, A.K., Aster, J.C. 2018. *Robbins Basic Pathology Tenth Edition*. Elsevier, Canada [online]  
<https://books.google.co.id/books?id=YYZMDgAAQBAJ&pg=PA31&dq>

- Lui, S., Jones, R.L., Robinson, N.J., Greenwood, S.L., Aplin, J.D., Tower, C.L. Detrimental Effects of Ethanol and Its Metabolite Acetaldehyde on First Trimester Human Placental Cell Turnover and Function. 2014. PLoS ONE 9(2): e87328
- Manuaba, I.B., et al. 2007. *Pengantar Kuliah Obstetric*. Jakarta: EGC
- Nuraida, L., Owens, J.D. 2015. *Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia*. CRC press, New York. <https://books.google.co.id>
- O'Leary, C. M., Bower, C. Guidelines For Pregnancy: What's An Acceptable Risk, And How Is The Evidence (Finally) Shaping Up. *Drug Alcohol Review*. 2012 31(2):170-83.
- Oyedeji, K.O., Bolarinwa, A.F., Fashina, A.M. Effect of Alcohol Consumption on Haematological and Reproductive Parameters in Female Albino Rats. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 2013, Vol 3:5
- Pasaribu R.D., Setia, T.F., Gultom, L. Sosial, Budaya Serta Pengetahuan Ibu Hamil Yang Tidak Mendukung Kehamilan Sehat. *Jurnal ilmiah PANNMED*. 2014, vol.9 :1
- Patra, J., Bakker, R., Irving, H., Jaddoe, V. W. V., Malini, S., Rehm, J. Dose-Response Relationship Between Alcohol Consumption Before And During Pregnancy And The Risks Of Low Birth Weight, Preterm Birth And Small-Size-For-Gestational Age (SGA) – A Systematic Review And Meta-Analyses. *BJOG An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2011, 118(12): 1411–1421
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2016 Tentang Standar Keamanan Dan Mutu Minuman Beralkohol [pdf]
- Randall, C.L, Saulnier, J.L. Effect of Ethanol on Prostacyclin, Thromboxane, and Prostaglandin E Production in Human Umbilical Veins . *Alcoholism: Clinical And Experimental Research*. 1995, Vol. 19 :3
- Reeder, S.J. 2013. *Keperawatan Maternitas: Kesehatan Wanita, Bayi, Dan Keluarga*. EGC: Jakarta

- Republika. 2008. *Tape Ketan Beralkohol, Namun Tetap Halal*. Article [online]  
<https://www.republika.co.id/berita/dunia-islam/info-halal/08/12/01/17608-tape-ketan-beralkohol-namun-tetap-halal> (diakses tanggal 15 Juli 2018)
- Ruf, J.C. Alcohol, Wine and Platelet Function. *Biol Res*. 2004, 37: 209-215
- Sastry, B.V. 1995. *Placental Toxicology*. CRC Press, U.S. <https://books.google.co.id>
- Sholihah, L.A., Ratu A.D. Makanan Tabu pada Ibu Hamil Suku Tengger. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 2014, 8 (7)
- Skagerström, J. 2015. *Alcohol Consumption During Pregnancy Prevalence, Predictors And Prevention*. Thesis. Department of Medical and Health Sciences, Linköping University, Sweden
- Steinkraus, K. 1996. *Handbook of Indigenous Fermented Foods, Second Edition, Revised and Expanded*. Marcel Dekker, New York. <https://books.google.co.id>
- Suaniti, N.M. Kadar Alkohol Dalam Tape Sebagai Hasil Fermentasi Beras Ketan (*Oryza Sativa Glutinosa*) Dengan *Saccaromyces Cerevisiae*. *Jurnal Virgin*, 2015, 1 (1) : 16-19
- Suckow, M.A., Weisbroth, S.H., Franklin, C.L., 2006. *The Laboratory Rat*. Elsevier Academic Press
- Tai, M., Piskorski, A., Kao, J.C., Hess, L.A., Monte, S.M., Gündog, F. Placental Morphology in Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alkohol and Alcoholism*, 2016, 1–7
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., Montine, K. S. 2018. *Comparative Anatomy And Histology A Mouse, Rat, And Human Atlas Second Edition*. Academic press. ebook
- Tutik N., Syari. 2012. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Brotowali (Tinospora Crispa, L.) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih (Rattus Norvegicus, L.)*. Tesis. Tidak Diterbitkan, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta. [Http://Eprints.Uny.Ac.Id/8322/3/Bab%202%20.\\_08308144012.Pdf](http://Eprints.Uny.Ac.Id/8322/3/Bab%202%20._08308144012.Pdf)
- Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M., Prastyo, E. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Tersertifikas Dalam Upaya*

*Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium.* Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro

Yulianti, C.H. Uji Beda Kadar Alkohol Pada Tape Beras, Ketan Hitam Dan Singkong. *Jurnal Teknik*, 2014, 6 (1): 531-536.

Zelner, I., Koren, G. Pharmacokinetics Of Ethanol In The Maternal-Fetal Unit. *Journal Popular Ther Clin Pharmacology*, 2013, 20 (3): E259



## Lampiran 1 Hasil Analisis Data

## Hasil Uji Normalitas

## Tests of Normality

|                | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|----------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|                | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig. |
| Berat Plasenta | .154                            | 20 | .200* | .960         | 20 | .542 |

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Hasil Uji Homogenitas

## Test of Homogeneity of Variances

Berat Plasenta

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .517             | 3   | 16  | .677 |

## Hasil Uji Oneway ANOVA

## ANOVA

Berat Plasenta

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F     | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | .013           | 3  | .004        | 1.853 | .178 |
| Within Groups  | .039           | 16 | .002        |       |      |
| Total          | .052           | 19 |             |       |      |



**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Berat Plasenta

Tukey HSD


| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|              |              |                       |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| Kontrol      | P1           | .0220                 | .03114     | .893 | -.0671                  | .1111       |
|              | P2           | .0440                 | .03114     | .510 | -.0451                  | .1331       |
|              | P3           | .0700                 | .03114     | .153 | -.0191                  | .1591       |
| P1           | Kontrol      | -.0220                | .03114     | .893 | -.1111                  | .0671       |
|              | P2           | .0220                 | .03114     | .893 | -.0671                  | .1111       |
|              | P3           | .0480                 | .03114     | .438 | -.0411                  | .1371       |
| P2           | Kontrol      | -.0440                | .03114     | .510 | -.1331                  | .0451       |
|              | P1           | -.0220                | .03114     | .893 | -.1111                  | .0671       |
|              | P3           | .0260                 | .03114     | .837 | -.0631                  | .1151       |
| P3           | Kontrol      | -.0700                | .03114     | .153 | -.1591                  | .0191       |
|              | P1           | -.0480                | .03114     | .438 | -.1371                  | .0411       |
|              | P2           | -.0260                | .03114     | .837 | -.1151                  | .0631       |

**Uji Korelasi****Correlations**

|                |                     | Dosis  | Berat Plasenta |
|----------------|---------------------|--------|----------------|
| Dosis          | Pearson Correlation | 1      | -.496*         |
|                | Sig. (2-tailed)     | .      | .026           |
|                | N                   | 20     | 20             |
| Berat Plasenta | Pearson Correlation | -.496* | 1              |
|                | Sig. (2-tailed)     | .026   | .              |
|                | N                   | 20     | 20             |

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

## Lampiran 2 Form kelayakan etik


**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

---

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**  
 No. 314 / EC / KEPK – S1 – KB / 09 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,  
 SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,  
 DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN


**JUDUL** : Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih terhadap Jumlah Total  
 Serum Darah Leukosit, Kadar Hemoglobin, Gangguan Pertumbuhan  
 dan Perkembangan Janin antara lain Malformasi, Berat Badan Lahir  
 (BBL), Sel Kupffer Hepatosit serta Histologi Plasenta pada Tikus  
*Rattus norvegicus strain wistar* Bunting.

**PENELITI** : Sauli Nur Laili  
 Firda Ayu Retnonongrum  
 Aisyah Nurul Aini  
 Herdian Fitria Widyanto Putri  
 Ayu Aniva Sari  
 Puput Maulidah Fatmala

**UNIT / LEMBAGA** : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

**TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya  
 Malang.

**DINYATAKAN LAIK ETIK.**

Malang, 10 SEP 2017  
 Ketua,  
  
 Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjud ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.Hk  
 NIK. 160746683

**Catatan :**  
 Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan  
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.  
 Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik  
 Penelitian (Amandemen Protokol).

### Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian



Gambar 1 Penimbangan Hewan Coba



Gambar 2 Kandang Hewan Coba



Gambar 3 Pengawinan Hewan Coba



Gambar 4 Air Tape Ketan



Gambar 5 Pemberian Air Tape Ketan Kepada Hewan Coba Dengan Sonde



Gambar 6 Penyuntikan Ketamin





Gambar 7 Proses Pembedahan Hewan Coba



Gambar 8 Pembedahan Hewan Coba Dan Pengambilan Sampel

ty666yu7



Gambar 9 Timbangan Digital Untuk Penimbangan Plasenta Hewan Coba



Gambar 10 Sampel Janin Dan Plasenta



Gambar 11 Sampel Penelitian